Robert K.
MURRAY

David A.
BENDER

Kathleen M.
BOTHAM

Peter J.
KENNELLY

Victor W.
RODWELL

P. Anthony
WEIL

29ª edición

HARPER
BIOQUÍMICA ILUSTRADA



A LANGE medical book

Harper Bioquímica ilustrada

29a. EDICIÓN

Robert K. Murray, MD, PhD
Emeritus Professor of Biochemistry
University of Toronto
Toronto, Ontario

David A. Bender, PhD
Professor (Emeritus) of Nutritional Biochemistry
University College London
London, United Kingdom

Kathleen M. Botham, PhD, DSc
Professor of Biochemistry
Department of Veterinary Basic Sciences
Royal Veterinary College
University of London
London, United Kingdom

Peter J. Kennelly, PhD
Professor and Head
Department of Biochemistry
Virginia Polytechnic Institute and State University
Blacksburg, Virginia

Victor W. Rodwell, PhD
Professor (Emeritus) of Biochemistry
Purdue University
West Lafayette, Indiana

P. Anthony Weil, PhD
Professor of Molecular Physiology and Biophysics
Vanderbilt University School of Medicine
Nashville, Tennessee

Traducción
Dr. Bernardo Rivera Muñoz



MÉXICO • BOGOTÁ • BUENOS AIRES • CARACAS • GUATEMALA • MADRID • NUEVA YORK
SAN JUAN • SANTIAGO • SAO PAULO • AUCKLAND • LONDRES • MILÁN • MONTREAL
NUEVA DELHI • SAN FRANCISCO • SINGAPUR • ST. LOUIS • SIDNEY • TORONTO

Director editorial: Javier de León Fraga
Editor de desarrollo: Manuel Bernal Pérez
Supervisor de producción: José Luis González Huerta

HARPER. BIOQUÍMICA ILUSTRADA.



Prolongación Paseo de la Reforma 1015, Torre A, Piso 17, Col. Desarrollo Santa Fe,
Delegación Álvaro Obregón
C.P. 01376, México, D.F.
Miembro de la Cámara Nacional de la Industria Editorial Mexicana, Reg. Núm. 736

ISBN: 978-607-15-0914-7

Translated from the twenty-ninth English edition of: *Harper's Illustrated Biochemistry.*

ISBN : 978-0-07-176576-3

1234567890
Impreso en China

2456789013
Printed in China

Coautores

Daryl K. Granner, MD
Professor (Emeritus) of Molecular Physiology
and Biophysics and Medicine
Vanderbilt University
Nashville, Tennessee

Peter L. Gross, MD, MSc, FRCP(C)
Associate Professor
Department of Medicine
McMaster University
Hamilton, Ontario

Molly Jacob, MB BS, MD, PhD
Professor and Chair
Department of Biochemistry
Christian Medical College
Vellore, Tamil Nadu

Frederick W. Keeley, PhD
Associate Director and Senior Scientist
Research Institute, Hospital for Sick Children,
Toronto, and Professor of Biochemistry
Department of Biochemistry
University of Toronto
Toronto, Ontario

Peter A. Mayes, PhD, DSc
Emeritus Professor of Veterinary Biochemistry
Royal Veterinary College
University of London
London, United Kingdom

Margaret L. Rand, PhD
Associate Senior Scientist
Hospital for Sick Children
Toronto and Professor
Departments of Laboratory
Medicine & Pathobiology and Biochemistry
University of Toronto
Toronto, Ontario

Joe Varghese, MB BS, MD
Assistant Professor
Department of Biochemistry
Christian Medical College
Vellore, Tamil Nadu

BIBLIOTECA MÉDICA VIRTUAL



Comité asesor para la revisión científica de la edición en español

M. en C. María del Carmen Castillo Fregoso
Profesora del Departamento de Bioquímica
Presidente de la Academia de Bioquímica de la Facultad de Medicina y Psicología
Universidad Autónoma de Baja California, México

D. en C. Airam Jenny Dávalos Marín
Docente del Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina
Universidad Autónoma de Guadalajara, México
Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CBMSO)
Universidad Autónoma de Madrid, España

Dr. Marco Antonio Falcón Franco
Jefe del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular
Facultad de Medicina
Universidad Autónoma de Guadalajara

M. en C. María Teresa González Martínez
Coordinadora Académica del Área Básica
Facultad de Salud Pública y Nutrición
Universidad Autónoma de Nuevo León, México

M. en C. María Adela Martínez Álvarez
Laboratorio de Soporte Nutricio
Facultad de Salud Pública y Nutrición
Universidad Autónoma de Nuevo León, México

D. en C. María de Lurdez Consuelo Martínez Montaño
Coordinadora de la Academia de Bioquímica
Facultad de Medicina
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México

Dr. Juan Enrique Mauricio Benavides
Líder del Cuerpo Académico de Investigación Biomédica
Catedrático Titular de la Materia de Bioquímica
Facultad de Medicina Unidad Saltillo
Universidad Autónoma de Coahuila, México

Dr. Celso Mora Rojas
Profesor de las Cátedras de Biología General y Biología Molecular
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Nacional de Asunción, Paraguay

M. en C. María de los Remedios Sánchez Díaz
Profesora de Bioquímica
CISALUD, Valle de Las Palmas
Universidad Autónoma de Baja California, México

¡Características clave en *Harper. Bioquímica ilustrada*, 29ª edición!

Ningún otro libro aclara el enlace entre bioquímica y la base molecular de la enfermedad como Harper. Bioquímica ilustrada, *29ª edición*

Características clave

- Cada capítulo se ha actualizado para reflejar los avances más recientes en el conocimiento y la tecnología
- Dieciséis historias de caso añaden relevancia clínica al material
- Un equilibrio cuidadoso de detalle y la explicación concisa que no se encuentra en ningún otro libro sobre el tema
- Nuevos capítulos sobre envejecimiento, cáncer y química clínica
- Nuevas preguntas de opción múltiple para poner a prueba el conocimiento y la comprensión
- Nueva lista de objetivos al principio de cada capítulo, seguida por un análisis breve de la importancia biomédica de los temas expuestos en el capítulo
- Número aumentado de cuadros que comprenden información importante, como los requerimientos de vitaminas y minerales
- Exposición ampliada sobre RNA no codificadores, reparación del daño de DNA y enfermedades del ser humano, actividades de miRNA, y nuevos análisis potentes para vigilar y caracterizar la transcripción en el ámbito del genoma
- Exposición mejorada del metabolismo del hierro en la salud y la enfermedad
- Ilustraciones a todo color, de alta calidad, con cobertura integrada de enfermedades bioquímicas e información clínica

Lista de objetivos al principio de cada capítulo

C A P Í T U L O

50

Proteínas plasmáticas e inmunoglobulinas

Robert K. Murray, MD, PhD, Molly Jacob, MB BS, MD, PhD Joe Varghese, MB BS, MD

O B J E T I V O S

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Listar las principales funciones de la sangre.
- Explicar las funciones de las principales proteínas plasmáticas, entre ellas albúmina, haptoglobina, transferrina, ceruloplasmina, α_1-antitripsina y α_2-macroglobulina.
- Describir cómo se mantiene la homeostasis del hierro, y cómo está afectada en ciertos trastornos.
- Describir las estructuras y funciones generales de las cinco clases de inmunoglobulinas, y los usos de anticuerpos monoclonales.
- Apreciar que el sistema de complemento está involucrado en varios procesos biológicos importantes.
- Indicar las causas de la enfermedad de Wilson, la enfermedad de Menkes, las enfermedades pulmonares y hepáticas asociadas con deficiencia de α_1-antitripsina, amiloidosis, mieloma múltiple y agammaglobulinemia.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La función fundamental de la sangre en el mantenimiento de la **homeostasis** (capítulo 51), y la facilidad con la cual puede obtenerse sangre, han significado que el estudio de sus constituyentes ha sido esencial en el desarrollo de la bioquímica y la bioquímica clínica. En este capítulo se describen las propiedades básicas de diversas **proteínas plasmáticas**, incluso las **inmunoglobulinas** (anticuerpos). En muchas enfermedades ocurren cambios de las cantidades de diversas proteínas plasmáticas e inmunoglobulinas, y pueden vigilarse por medio de electroforesis u otros procedimientos idóneos. Como se indicó en un capítulo anterior, las alteraciones de las actividades de ciertas **enzimas** que se encuentran en el plasma tienen utilidad diagnóstica en diversos estados patológicos. En el capítulo 51 se comentan las proteínas plasmáticas que participan en la coagulación de la sangre.

LA SANGRE TIENE MUCHAS FUNCIONES

El plasma y sus constituyentes llevan a cabo las funciones de la sangre, excepto por las celulares específicas, como el transporte de oxígeno y la defensa inmunitaria mediada por células (**cuadro 50-1**).

El **plasma** consta de agua, electrólitos, metabolitos, nutrientes, proteínas y hormonas. La composición de agua y electrólitos del plasma es prácticamente la misma que la de todos los líquidos extracelulares. Las cuantificaciones de laboratorio de las cifras de Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Cl^-, HCO_3^-, $PaCO_2$, y el pH de la sangre, tienen importancia en el manejo de muchos pacientes.

EL PLASMA CONTIENE UNA MEZCLA COMPLEJA DE PROTEÍNAS

La concentración de proteína total en el plasma de seres humanos es de alrededor de 7.0 a 7.5 g/dl, e incluye la mayor parte de los sólidos del plasma. Las proteínas del plasma en realidad son una mezcla compleja que comprende proteínas no sólo simples sino también conjugadas, como **glucoproteínas** y diversos tipos de **lipoproteínas**. El uso de técnicas de proteómica está permitiendo el aislamiento y la caracterización de proteínas plasmáticas previamente desconocidas, algunas presentes en cantidades muy pequeñas (p. ej., detectadas en el líquido de hemodiálisis y en el plasma de pacientes con cáncer), lo que así, expande el **proteoma plasmático**. El plasma de seres humanos contiene miles de **anticuerpos**, aunque en circunstancias normales la cantidad de cualquier anticuerpo por lo general es bastante baja. La **figura 50-1** muestra las dimensiones relativas y la masa molecular de algunas de las proteínas plasmáticas más importantes.

629

CUADRO 48–1 Tipos de colágeno y sus genes[1]

Tipo	Genes	Tejido
I	*COL1A1, COL1A2*	Casi todos los tejidos conjuntivos, incluso hueso
II	*COL2A1*	Cartílago, humor vítreo
III	*COL3A1*	Tejidos conjuntivos extensibles, como la piel, los pulmones y el sistema vascular
IV	*COL4A1–COL4A6*	Membranas basales
V	*COL5A1–COL5A3*	Componente menor en tejidos que contienen colágeno I
VI	*COL6A1–COL6A3*	Casi todos los tejidos conjuntivos
VII	*COL7A1*	Fibrillas de fijación
VIII	*COL8A1–COL8A2*	Endotelio, otros tejidos
IX	*COL9A1–COL9A3*	Tejidos que contienen colágeno II
X	*COL10A1*	Cartílago hipertrófico
XI	*COL11A1, COL11A2, COL2A1*	Tejidos que contienen colágeno II
XII	*COL12A1*	Tejidos que contienen colágeno I
XIII	*COL13A1*	Muchos tejidos
XIV	*COL14A1*	Tejidos que contienen colágeno I
XV	*COL15A1*	Muchos tejidos
XVI	*COL16A1*	Muchos tejidos
XVII	*COL17A1*	Hemidesmosomas cutáneos
XVIII	*COL18A1*	Muchos tejidos (p. ej., hígado, riñones)
XIX	*COL19A1*	Células de rabdomiosarcoma

Fuente: Adaptado de Prockop DJ, Kivirrikko KI: Collagens: molecular biology, diseases, and potentials for therapy. Annu Rev Biochem 1995;64:403. Copyright © 1995 por Annual Reviews, www.annualreviews.org. Reimpreso con autorización.

[1] Los tipos de colágeno se designan mediante números romanos. Las cadenas de procolágeno constituyentes, llamadas cadenas proα, se numeran empleando números arábigos, seguidos por el tipo de colágeno entre paréntesis; por ejemplo, el procolágeno tipo I se monta a partir de dos cadenas proα1(I) y una proα2(I). De este modo, es un heterotrímero, mientras que el procolágeno tipo 2 se monta a partir de tres cadenas proα1(II) y, de esta manera, es un homotrímero. Los genes que codifican para colágeno se nombran de acuerdo con el tipo de colágeno, escrito en números arábigos para el símbolo del gen, seguido por una A y el número de la cadena proα para la cual codifica. Así, los genes *COL1A1* y *COL1A2* codifican para las cadenas α1 y α2 del colágeno tipo I, respectivamente. Ahora se han reconocido por lo menos 28 tipos de colágeno.

de manera específica los **colágenos I y II** formadores de fibrillas, los principales colágenos de la piel y el hueso, y del cartílago, respectivamente. Sin embargo, se mencionarán algunos de los otros colágenos.

EL COLÁGENO ES LA PROTEÍNA MÁS ABUNDANTE EN EL MUNDO ANIMAL

Todos los tipos de colágeno tienen una **estructura de triple hélice**. En algunos colágenos, toda la molécula es de triple hélice, mientras que en otros la triple hélice puede incluir sólo una fracción de la estructura. El colágeno maduro tipo I, que contiene unos 1 000 aminoácidos, pertenece al primer tipo; en él, cada subunidad polipeptídica o cadena alfa forma una hélice de poliprolina siniestra de tres residuos por cada vuelta (**figura 48-1**). Tres de estas cadenas alfa después forman una **superhélice dies-**

CUADRO 48–2 Clasificación de los colágenos, con base principalmente en las estructuras que forman

Clase	Tipo
Formador de fibrillas	I, II, III, V, y XI
Parecido a red	IV, VIII, X
FACIT[1]	IX, XII, XIV, XVI, XIX
Filamentos con forma de rosario	VI
Fibrillas de fijación	VII
Dominio transmembrana	XIII, XVII
Otros	XV, XVIII

Fuente: Basado en Prockop DJ, Kivirrikko KI: Collagens: molecular biology, diseases, and potentials for therapy. Annu Rev Biochem 1995;64:403. Copyright © 1995 por Annual Reviews. Reimpreso con autorización.

[1] FACIT = colágenos asociados a fibrilla con triples hélices interrumpidas. Se han reconocido colágenos adicionales a los antes listados.

Mayor número de cuadros

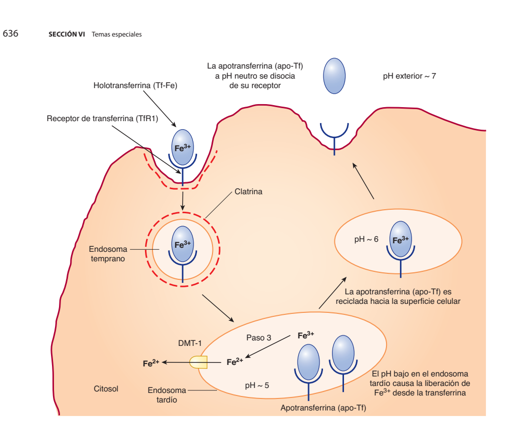


FIGURA 50–6 El ciclo de la transferrina. La holotransferrina (Tf-Fe) se une al receptor de transferrina 1 (TfR1) presente en hoyuelos cubiertos con clatrina en la superficie celular. El complejo de TfR1-Tf-Fe es objeto de endocitosis, y las vesículas endocíticas se fusionan para formar endosomas tempranos. Los endosomas tempranos maduran hacia endosomas tardíos, que tienen un pH ácido en su interior. El pH bajo causa liberación de hierro desde sus sitios de unión en la transferrina. La apotransferrina (apo-Tf) permanece unida al TfR1. El hierro férrico es convertido en su forma ferrosa por la ferrirreductasa, paso 3. A continuación el hierro ferroso es transportado hacia el citosol por medio del DMT1. El complejo de TfR1-apo-Tf es reciclado de regreso hacia la superficie celular. En la superficie celular la apo-Tf es liberada del TfR1. El TfR1 posteriormente se une a nueva Tf-Fe. Esto completa el ciclo de la transferrina. (Basada en la figura 17-48 en Lodish H et al.: *Molecular Cell Biology*, 6th ed. WH Freeman, 2008.)

hierro es alta, se sintetiza ferritina para almacenar hierro y, puesto que no se requiere captación adicional de hierro, se inhibe la síntesis de TfR1. Por el contrario, cuando la concentración de hierro es baja, no se sintetiza ferritina, mientras que el TfR1 está a disposición para promover la captación de hierro a partir de transferrina en la sangre.

Se han elucidado los mecanismos involucrados en la regulación de las síntesis de ferritina y TfR1 (**figura 50-8**). Esto se desencadena por regulación de la estabilidad de los mRNA que codifican para ferritina y TfR1. Dichos mRNA contienen **elementos de respuesta al hierro** (**IRE**) que forman asas en horquilla en sus regiones no traducidas (UTR) 5′ y 3′, respectivamente. Los IRE son unidos por **proteínas reguladoras de hierro** (**IRP**). Las IRP son sensibles a la concentración intracelular de hierro, y son inducidas por concentración baja. Sólo se unen a IRE cuando la concentración intracelular de hierro es baja. La unión de IRP al IRE en la UTR 3′ de mRNA que codifica para TfR1 estabiliza dicho mRNA, lo que aumenta la síntesis de TfR1 y la expresión del mismo sobre la superficie celular. Por otro lado, la unión de IRP al IRE en la UTR 5′ de mRNA que codifica para ferritina bloquea la traducción de esta última. De modo similar, en ausencia de unión de IRP a IRE (lo que sucede en presencia de concentración alta de hierro), se facilita la traducción de mRNA que codifica para ferritina, y el mRNA que codifica para TfR1 es rápidamente degradado. El resultado neto es que, cuando la concentración intracelular de hierro es alta, se sintetiza ferritina, no así TfR1, y cuando la concentración intracelular de hierro es baja, se sintetiza TfR1, no así ferritina. Éste es un ejemplo clásico de control de expresión de proteínas en el ámbito traduccional.

La hepcidina es el principal regulador de la homeostasis sistémica de hierro

La **hepcidina** es una proteína que se sabe que desempeña un papel fundamental en la homeostasis de hierro en el organismo. Se sintetiza en el hígado como una proteína precursora de 84 aminoácidos (prohepcidina). La prohepcidina es dividida para generar hepcidina bioactiva, que es un péptido de 25 aminoácidos. **La hepcidina se une al exportador de hierro celular, ferroportina, y desencadena su internalización y degradación.**

Cientos de ilustraciones a todo color

Preguntas de examen

Sección V

1. Respecto a los lípidos de membrana, seleccione la respuesta FALSA.
   A. El principal fosfolípido por masa en membranas de ser humano por lo general es fosfatidilcolina.
   B. Los glucolípidos están ubicados en las capas interna y externa de la membrana plasmática.
   C. El ácido fosfatídico es un precursor de la fosfatidilserina, no así de la esfingomielina.
   D. La fosfatidilcolina y la fosfatidiletanolamina están ubicadas principalmente en la capa externa de la membrana plasmática.
   E. El movimiento transversal (“flip-flop”) de fosfolípidos en membranas es muy lento.
2. Respecto a las proteínas de membrana, seleccione la respuesta FALSA.
   A. Debido a consideraciones estéricas, las hélices alfa no pueden existir en membranas.
   B. Un gráfico de hidropatía ayuda a estimar si un segmento de una proteína es predominantemente hidrofóbico o hidrofílico.
   C. Ciertas proteínas están ancladas a la capa externa de membranas plasmáticas por medio de estructuras glucofosfatidilinositol (GPI).
   D. La adenilil ciclasa es una enzima marcador para la membrana plasmática.
   E. La mielina tiene un contenido muy alto de lípido en comparación con proteína.
3. Respecto al transporte de membrana, seleccione la afirmación FALSA.
   A. El potasio tiene una densidad de carga más baja que el sodio, y tiende a moverse con mayor rapidez a través de membranas que el sodio.
   B. El flujo de iones a través de canales iónicos es un ejemplo de transporte pasivo.
   C. La difusión facilitada requiere un transportador de proteína.
   D. La inhibición de la Na^+ K^+-ATPasa inhibirá la captación de glucosa, dependiente de sodio, en células intestinales.
   E. La insulina, al reclutar transportadores de glucosa hacia la membrana plasmática, aumenta la captación de glucosa en células adiposas, no así en el músculo.
4. Respecto a la Na^+ K^+-ATPasa, seleccione la afirmación FALSA.
   A. Su acción mantiene la concentración intracelular alta de sodio en comparación con potasio.
   B. Puede usar hasta 30% del gasto de ATP total de una célula.
   C. Es inhibida por la digital, un fármaco que es útil en ciertas afecciones cardiacas.
   D. Está ubicada en la membrana plasmática de células.
   E. La fosforilación está involucrada en su mecanismo de acción, lo que lleva a su clasificación como un transportador activo impulsado por ATP tipo P.
5. ¿Qué moléculas permiten a las células responder a una molécula emisora de señales extracelular específica?
   A. Carbohidratos receptores específicos localizados a la superficie de la membrana plasmática interna.
   B. Bicapa lipídica de la membrana plasmática.
   C. Canales iónicos.
   D. Receptores que reconocen de manera específica esa molécula mensajera particular y se unen a ella.
   E. Membranas nucleares intactas.
6. Indique el término que se aplica en general a las moléculas mensajeras extracelulares que se unen a proteínas receptoras transmembrana:
   A. Inhibidor competitivo.
   B. Ligando.
   C. Curva de Scatchard.
   D. Sustrato.
   E. Llave.
7. En la emisión de señales autocrina
   A. Las moléculas mensajeras alcanzan sus células blanco por medio de paso por el torrente sanguíneo.
   B. Las moléculas mensajeras sólo viajan distancias cortas por el espacio extracelular hacia células que se encuentran en estrecha proximidad a la célula que está generando el mensaje.
   C. La célula que está produciendo el mensajero expresa receptores sobre su superficie que pueden responder a ese mensajero.
   D. Las moléculas mensajero por lo general se degradan rápidamente y, por ende, sólo pueden funcionar en distancias cortas.
8. Independientemente de cómo se inicia una señal, el evento de unión a ligando es propagado por medio de segundos mensajeros o reclutamiento de proteína. ¿Cuál es el resultado final de estos eventos de unión?
   A. Una proteína en la parte media de una vía de emisión de señales intracelular es activada.
   B. Una proteína en la parte superior de una vía de emisión de señales intracelular es activada.
   C. Una proteína en la parte superior de una vía de emisión de señales extracelular es activada.
   D. Una proteína en la parte superior de una vía de emisión de señales intracelular es desactivada.
   E. Una proteína en la parte inferior de una vía de emisión de señales intracelular es activada.
9. ¿Qué características de la superfamilia de receptores nucleares sugieren que estas proteínas han evolucionado a partir de un ancestro común?
   A. Todas se unen al mismo ligando con afinidad alta.
   B. Todas funcionan dentro del núcleo.
   C. Todas están sujetas a fosforilación reguladora.
   D. Todas contienen regiones de similitud/identidad alta de secuencia de aminoácidos.
   E. Todas se unen a DNA.
10. ¿Qué efecto tiene la degradación de complejos de receptor-ligando después de internalización sobre la capacidad de una célula para responder si vuelve a quedar expuesta de inmediato a la misma hormona?
   A. La respuesta celular es atenuada debido a un decremento del número de receptores celulares.

Más de 250 preguntas de opción múltiple

Contenido

Prefacio

Los autores y la editorial se complacen en presentar la vigésimo novena edición de *Harper. Bioquímica ilustrada.* La primera edición de este libro, titulada *Bioquímica de Harper*, se publicó en 1939 bajo la autoría única del Dr. Harold Harper, de la University of California, San Francisco. Después, varios autores han contribuido al libro.

Ilustración de la portada para la vigésima novena edición

La ilustración de la portada para la vigésimo novena edición conmemora a Elizabeth H. Blackburn, Carol W. Greider y Jack W. Szostak, quienes compartieron el Premio Nobel de 2009 en Fisiología o Medicina por su investigación de gran influencia sobre los telómeros y la enzima telomerasa. Los telómeros comprenden hasta 200 copias de una secuencia de DNA repetitiva llamada un cuádruple G, una estructura denominada por su disposición cíclica singular de cuatro grupos de cuatro bases guanina con enlaces de hidrógeno de cabeza a cola que estabilizan esta estructura. En la ilustración, el esqueleto de fosfodiéster del DNA está representado con una cinta, y las bases guanina, mediante hexágonos fusionados con pentágonos. La degradación de color espectral de púrpura a rojo facilita seguir la progresión de la cadena de polinucleótido. Los cuatro grupos de unidades de tetraguanina cíclicas pueden observarse en el centro apiladas desde arriba hacia abajo e inclinadas aproximadamente a 45 grados de izquierda a derecha (adaptado de Protein Data Bank ID no. 2KKA).

Como consecuencia de la naturaleza unidireccional de la replicación del DNA, cada vez que un cromosoma se replica, el número de unidades cuádruple G se reduce. Cuando el aporte de unidades de telómero se agota por completo, la replicación cesa, y la célula pasa por una transición hacia un estado senescente. Algunos científicos especulan que el telómero sirve como un reloj de cuenta regresiva que limita el número de veces que una célula somática puede dividirse y, por ende, su lapso de vida.

Cambios en la vigésima novena edición

Congruente con nuestro objetivo de proporcionar a los estudiantes un libro que describa la bioquímica y la ilustre de una manera médicamente importante, actualizada, integral y aun así relativamente concisa, además de actualizar cada capítulo, en esta nueva edición se presenta nuevo material importante.

Ahora cada capítulo empieza con una breve lista de sus objetivos, seguida por una breve explicación de su importancia biomédica. Una adición importante es la inclusión de más de 250 preguntas de examen de opción múltiple, cuyas respuestas se proporcionan en un banco de respuestas.

Otros cambios importantes comprenden tres capítulos por completo nuevos:

La bioquímica del envejecimiento
Cáncer: una perspectiva general
Bioquímica clínica

Otros cambios importantes son:

- Inclusión de aspectos de epidemiología en el capítulo "Bioinformática y biología computacional".
- Nuevas figuras que ilustran métodos clave para identificar posibles sitios activos, sitios de unión a ligando, y otros sitios de interacción (sección I), y diversos aspectos del metabolismo (sección II).
- Nuevos cuadros que resumen aspectos de enfermedades metabólicas, entre ellas las del metabolismo de purina, pirimidina y aminoácidos (sección III).
- Una exposición expandida sobre RNA no codificadores, reparación del daño de DNA y enfermedades en seres humanos, factores epigenéticos que controlan la expresión de genes eucariontes, las actividades de miRNA, y nuevos análisis potentes para vigilar la transcripción en el ámbito de genoma y caracterizarla (sección IV).
- Nuevos cuadros que abordan los requerimientos de vitaminas y minerales, y una exposición muy expandida del metabolismo del hierro en salud y enfermedad (sección VI).

Organización del libro

Después de dos capítulos introductorios, el texto se divide en seis secciones principales. En todas las secciones y capítulos se recalca la importancia médica de la bioquímica.

En la **sección I** se abordan las estructuras y funciones de proteínas y enzimas; también contiene un capítulo sobre bioinformática y biología computacional, que refleja la importancia creciente de estos temas en la bioquímica, biología y medicina modernas.

En la **sección II** se explica cómo en diversas reacciones celulares se utiliza energía o se libera, y traza las vías mediante las cuales los carbohidratos y lípidos son sintetizados y degradados. Asimismo, se describen las muchas funciones de estas moléculas.

La **sección III** trata de los aminoácidos, sus destinos metabólicos, ciertas características del catabolismo de proteína, y de los aspectos bioquímicos de las porfirinas y los pigmentos biliares.

En la **sección IV** se describen la estructura y función de los nucleótidos y los ácidos nucleicos, la replicación de DNA y la reparación del mismo, la síntesis de RNA y su modificación, síntesis de proteína, los principios de la tecnología de DNA recombinante, y el nuevo entendimiento de cómo está regulada la expresión de gen.

En la **sección V** se abordan aspectos de la comunicación extracelular e intracelular. Los temas comprenden estructura de membrana y función de la misma, las bases moleculares de las acciones de hormonas, y el campo de la transducción de señal.

La **sección VI** incluye 15 temas especiales: nutrición, digestión y absorción; vitaminas y minerales; radicales libres y antioxidantes; tráfico intracelular y clasificación de proteínas; glucoproteínas; la matriz extracelular; músculo y el citoesqueleto; proteínas plasmáticas e inmunoglobulinas; hemostasia y trombosis; eritrocitos y leucocitos; el metabolismo de xenobióticos; los aspectos bioquímicos del envejecimiento; los aspectos bioquímicos del cáncer; química clínica, y 16 historias de caso orientadas hacia la bioquímica. Este último capítulo concluye con un breve epílogo donde se indican algunos desafíos importantes para la medicina, para los cuales la bioquímica y disciplinas relacionadas desempeñarán funciones importantes en la identificación de soluciones.

En el **Apéndice** se listan útiles sitios web y revistas de bioquímica y de otros temas con contenido bioquímico importante.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Michael Weitz por su papel en la planeación de esta edición, y a Brian Kearns por su rol clave en hacer que esta edición quedara lista para publicación. También agradecemos a Mala Arora y sus colegas en Thomson Digital por sus esfuerzos en la edición, la composición tipográfica y las ilustraciones, y a Calvin "Nic" Steussy de la Purdue University por su ayuda en la generación de la ilustración de la portada.

Las sugerencias de estudiantes y colegas de todo el mundo han sido de lo más útiles para formular esta edición. Esperamos recibir aportes similares en el futuro.

Rob Murray agradece encarecidamente a Joe Varghese y Molly Jacob como coautores de los capítulos 50, 55 y 56, a Fred Keeley por sus muchas contribuciones al capítulo 48, a Peter Gross por ser coautor de los capítulos 51 y 57, y a Margaret Rand por ser coautora del capítulo 51. Un agradecimiento especial a Reinhart Reithmeier, Alan Volchuk y David Williams por revisar los capítulos 40 y 46, y hacer sugerencias inestimables para la revisión de los mismos.

Robert K. Murray
David A. Bender
Kathleen M. Botham
Peter J. Kennelly
Victor W. Rodwell
P. Anthony Weil

C A P Í T U L O

1

Bioquímica y medicina

Robert K. Murray, MD, PhD

O B J E T I V O S

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar de qué trata la bioquímica y valorar su papel fundamental en las ciencias de la vida.
- Entender la relación de la bioquímica con la salud y la enfermedad, para entender su papel en la medicina.
- Apreciar cómo el *Human Genome Project* ha propiciado o estimulado el interés por numerosas disciplinas que esclarecen muchos aspectos de la biología y la medicina.

INTRODUCCIÓN

La bioquímica puede definirse como *la ciencia de la base química de la vida* (del griego *bios* "vida"). La **célula** es la unidad estructural de los sistemas vivos. De este modo, también es factible describir a la bioquímica como *la ciencia de los constituyentes químicos de las células vivas, y de las reacciones y los procesos que experimentan.* Mediante esta definición, la bioquímica abarca grandes áreas de la **biología celular,** la **biología molecular** y la **genética molecular**.

El objetivo de la bioquímica es describir y explicar, en términos moleculares, todos los procesos químicos de las células vivas

El **principal objetivo** de la bioquímica es **el entendimiento completo, en el ámbito molecular, de todos los procesos químicos relacionados con las células vivas**. Para lograr este objetivo, los bioquímicos han buscado aislar las muchas moléculas que se encuentran en las células, determinar su estructura y analizar cómo funcionan. Se han usado muchas técnicas para estos propósitos; algunas de ellas se resumen en el **cuadro 1-1**.

Otros objetivos de la bioquímica son ayudar a **entender los orígenes de la vida sobre la Tierra**, e integrar el conocimiento bioquímico en aras de **mantener la salud** y **entender las enfermedades y tratarlas con eficacia.**

El conocimiento de la bioquímica es esencial para todas las ciencias de la vida

La bioquímica de los ácidos nucleicos ocupa un lugar fundamental justo en el corazón de la **genética**; a su vez, el uso de métodos genéticos ha sido crucial para dilucidar muchas áreas de la bioquímica. La **biología celular** se halla en estrecha correlación con la bioquímica. La **fisiología**, el estudio de la función del cuerpo, se superpone con la bioquímica casi por completo. En la **inmunología** se emplean muchas técnicas bioquímicas, y numerosos métodos inmunológicos han encontrado amplio uso por parte de los bioquímicos. La **farmacología** y la **farmacia** se fundamentan en un sólido conocimiento de la bioquímica y la fisiología, en particular, casi todos los fármacos son metabolizados mediante reacciones catalizadas por enzimas. Los venenos actúan sobre reacciones o procesos bioquímicos; éste es el tema de estudio de la **toxicología**. Los métodos bioquímicos cada vez reciben un uso más amplio en la investigación relacionada con los aspectos básicos de la **patología** (el estudio de la enfermedad), como la inflamación, la lesión celular y el cáncer. Muchos investigadores en **microbiología**, **zoología** y **botánica** emplean métodos bioquímicos de manera casi exclusiva. Estas relaciones no sorprenden, porque la vida, como se le conoce, depende de reacciones y procesos bioquímicos. De hecho, las antiguas barreras entre las ciencias de la vida están derrumbándose y la bioquímica está llegando a ser, cada vez de manera más frecuente, su **lenguaje común**.

Una relación recíproca entre la bioquímica y la medicina ha estimulado avances mutuos

Las dos preocupaciones más importantes para los investigadores en las ciencias de la salud —y en particular para los médicos— son tanto el entendimiento y el mantenimiento de la **salud**, como la comprensión y el tratamiento eficaz de las **enfermedades**. La bioquímica tiene enormes repercusiones sobre estas dos preocupaciones fundamentales de la medicina. De hecho, la interrelación de la bioquímica y la medicina es una

CUADRO 1–1 Los principales métodos y preparaciones usados en laboratorios bioquímicos

Métodos para separar y purificar las biomoléculas [1]
Fraccionamiento de sal (p. ej., precipitación de proteínas con sulfato de amonio)
Cromatografía: en papel, de intercambio iónico, de afinidad, de capa fina, de gas-líquido, de líquido a alta presión, de filtración en gel
Electroforesis: en papel, de alto voltaje, en agarosa, en acetato de celulosa, en gel de almidón, en gel de poliacrilamida, en gel de dodecil sulfato de sodio (SDS)-poliacrilamida
Ultracentrifugación
Métodos para determinar estructuras biomoleculares
Análisis elemental
Espectroscopia con luz ultravioleta (UV), visible, infrarroja y con resonancia magnética nuclear (NMR)
Uso de hidrólisis en ácido o alcalina para degradar la biomolécula en estudio hacia sus constituyentes básicos
Uso de un conjunto de enzimas de especificidad conocida para degradar la biomolécula en estudio (p. ej., proteasas, nucleasas, glucosidasas)
Espectrometría de masa
Métodos de secuenciación específicos (p. ej., para proteínas y ácidos nucleicos)
Cristalografía con rayos X
Preparaciones para estudiar procesos bioquímicos
Animal entero (incluye animales transgénicos y con deleciones de gen)
Órgano perfundido aislado
Corte de tejido
Células enteras
Homogeneizado
Organelos celulares aislados
Subfraccionamiento de organelos
Metabolitos y enzimas purificados
Genes aislados (incluso reacción en cadena de polimerasa y mutagénesis dirigida hacia sitio)

[1] Casi todos estos métodos son idóneos para analizar los componentes presentes en homogeneizados de células y en otras preparaciones bioquímicas. El uso secuencial de varias técnicas por lo general permitirá la purificación de casi todas las biomoléculas. El lector encontrará detalles en libros sobre métodos de investigación bioquímica.

amplia avenida que circula en dos sentidos. Los estudios bioquímicos han esclarecido muchos aspectos de la salud y la enfermedad, y a la inversa, el estudio de diversos aspectos de la salud y la enfermedad ha abierto nuevas áreas en la bioquímica. En la **figura 1-1** se muestran algunos ejemplos de esta avenida de dos direcciones. Por ejemplo, el conocimiento de la estructura y la función de las proteínas fue necesario para dilucidar la diferencia bioquímica única entre la **hemoglobina normal** y la de **células falciformes**. Por otra parte, el análisis de la hemoglobina de células falciformes ha contribuido de manera significativa al entendimiento de la estructura y la función tanto de la hemoglobina como de otras proteínas normales. Cabría citar ejemplos análogos de beneficio recíproco entre la bioquímica y la medicina para los otros incisos pareados que muestra la figura 1-1. Otro ejemplo es la investigación pionera de Archibald Garrod, médico que ejerció en Inglaterra a principios del siglo XX, quien estudió a pacientes con diversos trastornos hasta cierto punto raros (alcaptonuria, albinismo, cistinuria y pentosuria; los cuales se describen en capítulos posteriores), y estableció que estas enfermedades estaban determinadas por mecanismos genéticos. Garrod designó a estas enfermedades como **errores congénitos del metabolismo (metabolopatías)**; sus ideas proporcionaron un importante fundamento para el desarrollo de la genética bioquímica humana. Los esfuerzos más recientes por entender la base de la enfermedad genética conocida como **hipercolesterolemia familiar**, que origina aterosclerosis grave a una edad temprana, han llevado a alcanzar un avance evidente del entendimiento de los receptores celulares y de los mecanismos de captación del colesterol hacia las células. Los estudios de **oncogenes** y **genes supresores de tumor** en células cancerosas han dirigido la atención hacia los mecanismos moleculares comprendidos en el control del crecimiento celular normal. Tales ejemplos y muchos otros recalcan la manera en que el estudio de la enfermedad llega a abrir áreas de la función celular para investigación bioquímica básica.

La **relación entre medicina y bioquímica** tiene inferencias importantes para la primera. Mientras el tratamiento médico esté fundamentado con firmeza en el conocimiento de la bioquímica y otras ciencias básicas, la práctica de la medicina tendrá una **base racional** capaz de adaptarse para dar cabida al nuevo conocimiento. Esto contrasta con cultos de salud no ortodoxos y con al menos algunas prácticas de "medicina alternativa" que a menudo están fundamentadas en poco más que mitos e ilusiones y, por lo general, carecen de base intelectual alguna.

La bioquímica es un área importante de la ciencia. Las muchas maneras en las cuales **la ciencia es importante para los médicos** (al igual que para otros trabajadores del cuidado de la salud o de la biología, sea dedicados a seres humanos o a animales) han sido bien expresadas en un artículo escrito por Cooke (2010). Incluyen: i) ofrecer un entendimiento fundamental con base en el cual debe construirse el ejercicio profesional, ii) estimular la curiosidad y crear los hábitos científicos que son esenciales para el aprendizaje continuo durante toda la carrera de un profesional, iii) mostrar de qué modo se ha adquirido el conocimiento actual y iv) recalcar la inmensidad de lo que aún se desconoce. Por supuesto, es vital que la aplicación de la ciencia para ayudar al paciente se practique con humanidad y con los estándares éticos más altos.

LOS PROCESOS BIOQUÍMICOS NORMALES SON LA BASE DE LA SALUD

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la **salud** como "el estado de completo bienestar físico, mental y social, y no tan sólo la ausencia de enfermedad". Desde un punto de vista estrictamente bioquímico, cabe considerar a la salud como aquella situación en la cual las muchas miles de reacciones

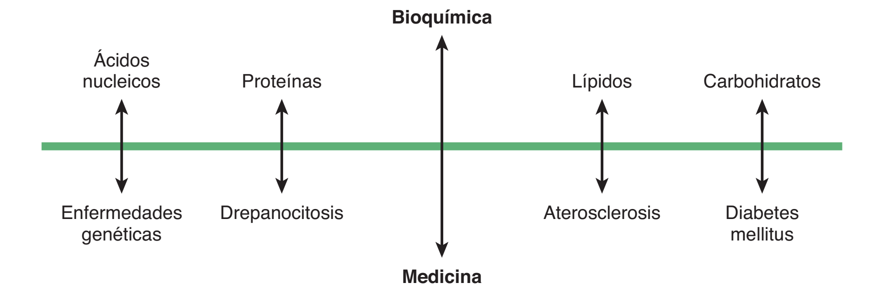


FIGURA 1–1 Ejemplos de la avenida bidireccional que conecta la bioquímica y la medicina. El conocimiento de las moléculas bioquímicas mostradas en la parte superior del diagrama ha esclarecido el entendimiento de las enfermedades mostradas en la mitad inferior y, a la inversa, los análisis de las enfermedades que se muestran abajo han aclarado muchas áreas de la bioquímica. Note que la drepanocitosis es una enfermedad genética, y que tanto la aterosclerosis como la diabetes mellitus tienen componentes genéticos.

intracelulares y extracelulares que ocurren en el cuerpo están procediendo a índices acordes con la supervivencia máxima del organismo en el estado fisiológico. Sin embargo, se trata de un punto de vista en extremo reduccionista; debe quedar de manifiesto que el cuidado de la salud de los pacientes no sólo requiere un amplio conocimiento de los **principios biológicos**, sino también de principios **psicológicos** y **sociales**.

La investigación bioquímica tiene repercusiones sobre la nutrición y la medicina preventiva

Un prerrequisito importante para el mantenimiento de la salud es la ingesta óptima de diversas sustancias químicas en la dieta, entre las cuales destacan **vitaminas**, algunos **aminoácidos**, ciertos **ácidos grasos**, diversos **minerales** y **agua**. Dado que gran parte del tema de estudio tanto de la **bioquímica** como de la **nutrición** comprende diversos aspectos de estas sustancias químicas, hay una estrecha relación entre ambas ciencias. Más aún, se está haciendo hincapié en los intentos sistemáticos por mantener la salud y prevenir la enfermedad, esto es, en la **medicina preventiva**, así que se observa un énfasis en los métodos nutricionales para —por ejemplo— tratar la prevención de aterosclerosis y cáncer. El entendimiento de la nutrición depende en gran medida del conocimiento sobre bioquímica.

Casi todas las enfermedades, y tal vez todas, tienen una base bioquímica

Se cree que casi todas las enfermedades, si no es que todas, son manifestaciones de anormalidades de moléculas, reacciones químicas o procesos bioquímicos. En el **cuadro 1-2** se listan **los principales factores que causan enfermedades** en animales y seres humanos. Todos ellos afectan una o más reacciones químicas o moléculas cruciales en el cuerpo. En este libro se encontrarán muchos ejemplos de la base bioquímica de enfermedades. En casi todos estos padecimientos, los estudios bioquímicos contribuyen tanto al diagnóstico como al tratamiento. En el cuadro 56-1 se resumen algunos **usos importantes de las investigaciones bioquímicas y de análisis de laboratorio en relación con enfermedades**. En el capítulo 56 se describen muchos aspectos del campo de la **bioquímica clínica**, que se relacionan principalmente con el uso de pruebas bioquímicas para ayudar al diagnóstico de enfermedad, y al manejo general de pacientes que presentan diversos trastornos. El capítulo 57 ayuda además a ilustrar la relación entre bioquímica y enfermedad al comentar con cierto detalle aspectos bioquímicos de 16 casos médicos diferentes.

Algunos de los **principales desafíos que encaran la medicina y las ciencias de la salud relacionadas** también se esbozan muy brevemente al final del capítulo 57. Al abordar estos desafíos, los estudios bioquímicos ya se entrelazan, y seguirán haciéndolo, con estudios en varias otras disciplinas, como genética, biología celular, inmunología, nutrición, patología y farmacología. Muchos bioquímicos están muy interesados en contribuir a hallar soluciones de temas clave, como la manera en que puede asegurarse la supervivencia del género humano, y en educar al público para apoyar el uso del método científico en la resolución de problemas importantes (p. ej., ambientales y de otros tipos) que confronta la humanidad.

CUADRO 1–2 Principales causas de enfermedades[1]

1. **Agentes físicos:** traumatismo mecánico, extremos de temperatura, cambios repentinos de la presión atmosférica, radiación, descarga eléctrica.
2. **Agentes químicos, incluso fármacos:** ciertos compuestos tóxicos, fármacos terapéuticos, etcétera.
3. **Agentes biológicos:** virus, bacterias, hongos, formas superiores de parásitos.
4. **Falta de oxígeno:** pérdida del aporte sanguíneo, disminución de la capacidad transportadora de oxígeno de la sangre, envenenamiento de las enzimas oxidativas.
5. **Trastornos genéticos:** congénitos, moleculares.
6. **Reacciones inmunitarias:** anafilaxia, enfermedad autoinmunitaria.
7. **Desequilibrios nutricionales:** deficiencias, excesos.
8. **Desequilibrios endocrinos:** deficiencias o excesos hormonales.

[1] **Nota:** todas las causas listadas actúan al influir sobre los diversos mecanismos bioquímicos en la célula o en el cuerpo.
Fuente: adaptado, con autorización, de Robbins SL, Cotram RS, Kumar V: *The Pathologic Basis of Disease*, 3rd ed. Saunders, 1984. Copyright © 1984 Elsevier Inc. con autorización de Elsevier.

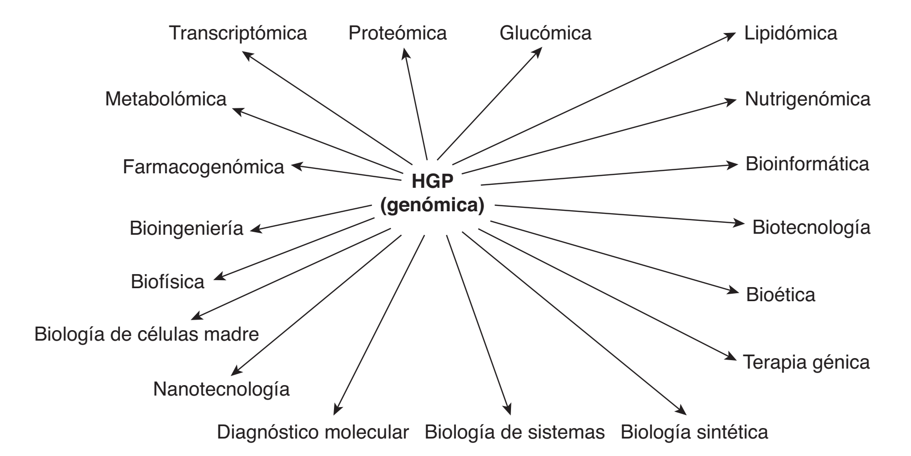


FIGURA 1–2 El *Human Genome Project* (HGP) ha influido sobre muchas disciplinas y áreas de investigación. La bioquímica en sí no se muestra en esta figura, porque ya estaba en desarrollo mucho tiempo antes de que comenzara el HGP. Sin embargo, diversas disciplinas mostradas (bioinformática, genómica, glucómica, lipidómica, metabolómica, diagnóstico molecular, proteómica, y transcriptómica) son unas muy activas áreas de investigación por parte de bioquímicos.

Repercusiones del *Human Genome Project* (HGP, Proyecto del Genoma Humano) sobre la bioquímica, biología y medicina

A finales del decenio de 1990-1999, el HGP logró notorios progresos en la secuenciación del genoma humano. Esto culminó en julio de 2000, cuando líderes de los dos grupos que participaron en este esfuerzo (el *International Human Genome Sequencing Consortium* y *Celera Genomics*, compañía privada) anunciaron que se había secuenciado más de 90% del genoma. A principios de 2001 se publicaron versiones borrador de la secuencia. Salvo algunos vacíos, la secuencia de todo el genoma humano se completó en 2003, 50 años después de la descripción de la naturaleza de doble hélice del ácido desoxirribonucleico (DNA) por Watson y Crick.

Son enormes las **inferencias** del HGP para la **bioquímica**, toda la **biología**, así como para la **medicina** y las **ciencias de la salud relacionadas**, y aquí sólo se mencionan algunos puntos. **Ahora es posible aislar cualquier gen y, por lo general, determinar su estructura y función** (p. ej., mediante experimentos de secuenciación y deleción). Muchos **genes antes desconocidos** han sido revelados; sus productos ya se han establecido o están bajo estudio. Se han aclarado nuevos aspectos de la **evolución del ser humano** y se han refinado los procedimientos para **rastrear genes vinculados con enfermedad**. En diversas secciones de este libro hay referencias al HGP.

A medida que aumentan las ramificaciones del HGP, es de suma importancia que los lectores comprendan **las importantes contribuciones al entendimiento de la salud y la enfermedad del ser humano** que se han hecho, y que se están haciendo, mediante **estudios de los genomas de organismos modelo**, en particular *Drosophila melanogaster* (la mosca de la fruta) y **Caenorhabditis elegans** (un nematodo). Esto ha sido claramente expresado por Bruce Alberts (2010) al reflexionar sobre el impresionante progreso reciente logrado en el desciframiento de los genomas de estos dos organismos. Dado que estos organismos se pueden manipular experimentalmente y tienen tiempos de generación breves, puede hacerse progreso relativamente rápido en el entendimiento de las funciones normales de sus genes y de la manera en que las anormalidades de sus genes pueden causar enfermedad. Se espera que estos avances puedan traducirse en métodos que ayuden al ser humano. De acuerdo con Alberts, "independientemente de lo increíble que parezca, la investigación futura sobre moscas y gusanos con bastante frecuencia proporcionará el camino más corto y más eficiente para curar enfermedades de seres humanos". Esto se aplica a trastornos tan diferentes como el cáncer y la enfermedad de Alzheimer.

En la **figura 1-2** se muestran **áreas de gran interés actual** que se han desarrollado de manera directa como resultado del progreso logrado en el HGP o cuyo avance se ha visto estimulado por el mismo. Como resultado del HGP, han surgido muchos de los llamados campos de **-ómica**, que comprenden estudios integrales de las estructuras y funciones de las moléculas que cada uno estudia. El glosario de este capítulo proporciona las definiciones de los campos listados a continuación. Los productos de genes (moléculas de ácido ribonucleico [RNA] y proteínas) están bajo estudio con el uso de las técnicas de **transcriptómica** y **proteómica**. Un notorio ejemplo de la rapidez del progreso en transcriptómica es la explosión de conocimiento relacionado con pequeñas moléculas de RNA como reguladoras de la actividad de genes. Otros campos de -ómica comprenden **glucómica**, **lipidómica**, **metabolómica**, **nutrigenómica** y **farmacogenómica**. Para mantenerse al día con la cantidad de información que se está generando, la **bioinformática** ha recibido mucha atención. Otros campos relacionados a los cuales se ha transmitido el ímpetu del HGP son **biotecnología**, **bioingeniería**, **biofísica** y **bioética**. La **nanotecnología** es un área activa, la cual, por ejemplo, puede proporcionar nuevos métodos de diagnóstico y tratamiento para el cáncer y otros padecimientos. La **biología de células madre** ocupa un lugar preponderante en gran parte de la investigación actual. La promesa que la **terapia génica** lleva implícita aún no se cumple, pero parece probable que eso ocurrirá tarde o temprano. Se han creado muchas **pruebas diagnósticas moleculares** nuevas en áreas como pruebas y diagnós-

tico genéticos, microbiológicos e inmunológicos. La **biología de sistemas** también está en ciernes. La **biología sintética** quizá es la más interesante de todas, cuenta con el potencial de crear organismos vivos (p. ej., en un inicio bacterias pequeñas) a partir de material genético *in vitro*, el cual quizá podría ser diseñado para llevar a cabo tareas específicas (p. ej., limpiar derrames de petróleo). Como en el caso de las células madre, esta área atraerá mucha atención por parte de bioéticos y otros. Más adelante en este libro se hace referencia a muchos de los temas anteriores.

Todo lo anterior ha hecho que la época actual sea muy interesante para estudiar o participar de manera directa en biología y medicina. Los resultados de la investigación en las diversas áreas antes mencionadas tendrán grandes repercusiones en el futuro de la biología, la medicina y las ciencias de la salud.

RESUMEN

- La bioquímica es la ciencia que se encarga del estudio de las diversas moléculas que se encuentran en células y organismos vivos, así como sus reacciones químicas. Dado que la vida depende de reacciones bioquímicas, la bioquímica se ha convertido en el lenguaje básico de todas las ciencias biológicas.
- La bioquímica se encarga del estudio de toda la gama de formas de vida, desde virus y bacterias que pudieran considerarse simples hasta seres humanos complejos.
- La bioquímica y la medicina y otras disciplinas sobre el cuidado de la salud están íntimamente relacionadas. La salud en todas las especies depende de un equilibrio armónico de reacciones bioquímicas que están ocurriendo en el cuerpo, en tanto que la enfermedad refleja anormalidades en biomoléculas, reacciones bioquímicas o procesos bioquímicos.
- Los avances en el conocimiento de la bioquímica han esclarecido muchas áreas de la medicina. A la inversa, el estudio de las enfermedades a menudo ha revelado aspectos previamente no sospechados de la bioquímica. El enfoque bioquímico suele ser fundamental para esclarecer las causas de enfermedades y diseñar terapias apropiadas.
- El uso apropiado de diversas pruebas de laboratorio bioquímicas es un componente integral del diagnóstico y de la vigilancia del tratamiento.
- Un conocimiento sólido de la bioquímica y de otras disciplinas básicas conexas es esencial para la práctica racional de la medicina y de ciencias de la salud relacionadas.
- Los resultados del HGP y de investigación en áreas afines tendrán una profunda influencia sobre el futuro de la biología, la medicina y otras ciencias de la salud. Se enfatiza la importancia de la investigación de genómica en organismos modelo como *D. melanogaster* y *C. elegans* para entender enfermedades de seres humanos.

REFERENCIAS

Alberts B: Model organisms and human health. Science 2010;330:1724.

Alberts B: Lessons from genomics. Science 2011;331:511. (En este número de Science y números sucesivos en febrero de 2011 varios científicos comentan sobre la trascendencia del décimo aniversario de las publicaciones relacionadas con la secuencia del genoma humano.)

Cammack R, Attwood T, Campbell P, et al (editores): Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology. 2nd ed. Oxford University Press. 2006.

Cooke M. Science for physicians. Science 2010;329;1573.

Feero WG, Guttmacher AE, Collins FS: Genomic medicine—an updated primer. N Eng J Med 2010;362:2001.

Fruton JS: *Proteins, Enzymes, Genes: The Interplay of Chemistry and Biology.* Yale University Press, 1999. (Provee el contexto histórico de gran parte de la investigación actual sobre bioquímica.)

Garrod AE: Inborn errors of metabolism. (Croonian Lectures.) Lancet 1908;2:1:73,142,214.

Gibson DG, Glass JI, Lartigue C, et al: Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. Science 2010;329:52.

Kornberg A: Basic research: The lifeline of medicine. FASEB J 1992;6: 3143.

Kornberg A: Centenary of the birth of modern biochemistry. FASEB J 1997;11:1209.

Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM): Center for Medical Genetics, Johns Hopkins University and National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine, 1997. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/ (Los números asignados a las entradas en el OMIM serán citados en algunos capítulos de este libro. Al consultar esta amplia presentación de enfermedades y otras entradas relacionadas sobre proteínas específicas, enzimas y demás, el lector incrementará en gran medida su conocimiento y comprensión de varios temas vinculados con este texto y que son considerados aquí. La versión en línea es actualizada casi a diario.)

Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, et al (editores): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001 (Este texto está ahora disponible en línea y actualizado como *The Online Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease* en www.ommbid.com. Se requiere una suscripción, pero el acceso está disponible en bibliotecas de universidades y hospitales, entre otras opciones.)

Scherer S: *A Short Guide to the Human Genome.* CSHL Press, 2008.

Weatherall DJ: Systems biology and red cells. N Engl J Med 2011; 364;376.

GLOSARIO

Bioética: área de la ética que se encarga de la aplicación de principios morales y éticos a la biología y medicina.

Biofísica: aplicación de física y sus técnicas a la biología y medicina.

Bioinformática: disciplina que se encarga de reunir, almacenar y analizar datos biológicos, en especial secuencias de DNA y proteína (véase capítulo 10).

Bioingeniería: aplicación de ingeniería a biología y medicina.

Biología de células madre: una célula madre es una célula indiferenciada que tiene el potencial de renovarse por sí misma y de diferenciarse hacia cualquiera de las células adultas que se encuentran en el organismo. La biología de células madre se encarga del estudio de las propiedades biológicas de las células madre y sus usos en diversas enfermedades.

Biología de sistemas: campo de la ciencia en el cual se estudian sistemas biológicos completos de una manera integrada (en contraposición con el método reduccionista de, por ejemplo, la bioquímica clásica).

Biología sintética: campo que combina técnicas biomoleculares con métodos de ingeniería para construir nuevas funciones y sistemas biológicos.

Biotecnología: campo en el cual se combinan métodos bioquímicos, de ingeniería y otros, para crear productos biológicos para uso en medicina y en la industria.

Diagnóstico molecular: uso de métodos moleculares (p. ej., sondas de DNA) para ayudar en el diagnóstico de diversas enfermedades con alteraciones bioquímicas, genéticas, inmunitarias, microbianas y otros padecimientos médicos.

Farmacogenómica: uso de información y tecnologías genómicas para optimizar el descubrimiento y la creación de blancos farmacológicos y de fármacos (véase capítulo 54).
Genómica: el genoma es el grupo completo de genes de un organismo (p. ej., el genoma humano), y genómica es el estudio a fondo de las estructuras y funciones de genomas (véase capítulo 10 y otros).
Glucómica: el glucoma es la totalidad de carbohidratos simples y complejos en un organismo. La glucómica es el estudio sistemático de las estructuras y funciones de glucomas (p. ej., el glucoma humano; véase capítulo 47).
Lipidómica: el lipidoma es la totalidad de lípidos que se encuentran en un organismo. La lipidómica es el estudio a fondo de las estructuras y funciones de todos los miembros del lipidoma, así como de sus interacciones, tanto en salud como en enfermedad.
Metabolómica: el metaboloma es la totalidad de metabolitos (moléculas pequeñas comprendidas en el metabolismo) que se encuentran en un organismo. La metabolómica es el estudio a fondo de sus estructuras, funciones y cambios en diversos estados metabólicos.
Nanotecnología: el desarrollo y aplicación a la medicina y otras áreas de dispositivos (como nanocápsulas [*nanoshells*], véase glosario del capítulo 55) que tienen un tamaño de sólo unos nanómetros (10^{-9} m = 1 nm).
Nutrigenómica: estudio sistemático de los efectos de los nutrientes sobre la expresión genética y de los efectos de variaciones genéticas sobre el manejo de nutrientes.
Proteómica: el proteoma es la totalidad de proteínas de un organismo. La proteómica es el estudio sistemático de las estructuras y funciones de proteomas, incluso variaciones en la salud y la enfermedad (véase capítulo 4).
Terapia génica: se aplica al uso de genes sometidos a procesos de ingeniería genética para tratar diversas enfermedades (véase capítulo 39).
Transcriptómica: el transcriptoma es el grupo completo de transcripciones de RNA producidas por el genoma a un periodo fijo en el tiempo. La transcriptómica es el estudio integral de la expresión de genes en el ámbito del RNA (véanse capítulo 36 y otros).

CAPÍTULO

2

Agua y pH

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir las propiedades del agua que explican su tensión de superficie, viscosidad, estado líquido a temperatura ambiente, y poder solvente.
- Usar fórmulas estructurales para representar varios compuestos orgánicos que pueden servir como donadores de enlace de hidrógeno o como aceptores del mismo.
- Explicar el papel que desempeña la entropía en la orientación, en un ambiente acuoso, de las regiones polar y no polar de macromoléculas.
- Indicar las contribuciones cuantitativas de los puentes de sal, las interacciones hidrofóbicas y las fuerzas de van der Waals a la estabilidad de las macromoléculas.
- Explicar la relación del pH con la acidez, alcalinidad y los determinantes cuantitativos que caracterizan los ácidos débiles y fuertes.
- Calcular el cambio de pH que acompaña a la adición de una cantidad dada de ácido o base a una solución amortiguada.
- Describir qué hacen los amortiguadores, cómo lo hacen, y las condiciones en las cuales un amortiguador es más eficaz en condiciones fisiológicas o en otras condiciones.
- Ilustrar cómo la ecuación de Henderson-Hasselbalch puede usarse para calcular el cambio neto de un polielectrólito a un pH dado.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El agua es el componente químico predominante de los organismos vivos. Sus singulares propiedades físicas, que incluyen la capacidad para solvatar una amplia gama de moléculas orgánicas e inorgánicas, se derivan de su estructura bipolar y de su excepcional capacidad para formar enlaces de hidrógeno. La manera en que el agua interactúa con una biomolécula solvatada influye sobre la estructura de ambas, tanto de la biomolécula como del agua. El agua, un excelente nucleófilo, es un reactivo o un producto en muchas reacciones metabólicas. La regulación del equilibrio del agua depende de mecanismos hipotalámicos que controlan la sed, de la hormona antidiurética (ADH), de la retención o excreción de agua por los riñones, y de la pérdida por evaporación. La diabetes insípida nefrogénica, que comprende la incapacidad para concentrar orina o para hacer ajustes a cambios sutiles de la osmolaridad del líquido extracelular, se produce por falta de capacidad de respuesta de los osmorreceptores de los túbulos renales a la ADH.

El agua tiene una propensión leve a disociarse hacia iones hidróxido y protones. La concentración de protones, o **acidez**, de soluciones acuosas por lo general se reporta usando la escala de pH logarítmica. El bicarbonato y otros amortiguadores en circunstancias normales mantienen el pH del líquido extracelular entre 7.35 y 7.45. Las alteraciones sospechadas del equilibrio acidobásico se verifican al medir el pH de la sangre arterial y el contenido de CO_2 de la sangre venosa. Las causas de acidosis (pH sanguíneo <7.35) son cetosis diabética y acidosis láctica. La alcalosis (pH >7.45) puede presentarse después de vómitos de contenido gástrico ácido.

EL AGUA ES UN SOLVENTE BIOLÓGICO IDEAL

Las moléculas de agua forman dipolos

Una molécula de agua es un tetraedro irregular, un tanto asimétrico, con oxígeno en su centro (**figura 2-1**). Los dos hidrógenos y los electrones no compartidos de los dos orbitales *sp*^{3}-hibridados restantes ocupan los ángulos del tetraedro. El ángulo de 105 grados entre los hidrógenos difiere un poco del ángulo tetraédrico ideal, de 109.5 grados. El amoniaco también es tetraédrico, con un ángulo de 107 grados entre sus hidrógenos. El átomo de

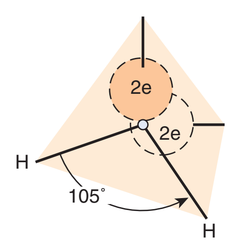


FIGURA 2–1 **La molécula de agua tiene geometría tetraédrica.**

oxígeno fuertemente electronegativo en el agua empuja los electrones en dirección contraria a los núcleos de hidrógeno, lo que los deja con una carga positiva parcial, mientras que sus dos pares de electrones no compartidos constituyen una región de carga negativa local.

Una molécula con carga eléctrica distribuida de manera asimétrica alrededor de su estructura se denomina un **dipolo**. La **constante dieléctrica** alta del agua depende de su dipolo fuerte. Como se describe de manera cuantitativa mediante la ley de Coulomb, la fuerza de la interacción *F* entre partículas que tienen carga opuesta es inversamente proporcional a la constante dieléctrica ε del medio circundante. La constante dieléctrica para un vacío es la unidad; para el hexano es 1.9; para el etanol, 24.3, y para el agua, 78.5. Por ende, el agua disminuye mucho la fuerza de atracción entre especies cargadas y polares en comparación con ambientes libres de agua que tienen constantes dieléctricas más bajas. Su fuerte dipolo y constante dieléctrica alta permiten al agua disolver grandes cantidades de compuestos cargados, como las sales.

Las moléculas de agua forman enlaces de hidrógeno

Un núcleo de hidrógeno parcialmente desprotegido, unido de manera covalente a un átomo de oxígeno o de nitrógeno que extrae electrón, puede interactuar con un par de electrones no compartidos sobre otro átomo de oxígeno o nitrógeno para formar un **enlace de hidrógeno**. Dado que las moléculas de agua tienen estas dos características, la formación de enlaces de hidrógeno favorece la autoasociación de moléculas de agua hacia disposiciones ordenadas (**figura 2-2**). La formación de enlaces de hidrógeno ejerce una profunda influencia sobre las propiedades físicas del agua, lo que explica su viscosidad, tensión superficial y punto de ebullición excepcionalmente altos. En promedio, cada molécula en agua líquida se asocia por medio de enlaces de hidrógeno con otras 3.5. Estos enlaces son hasta cierto punto débiles y transitorios, con una vida media de unos pocos nanosegundos o menos. La rotura de un enlace de hidrógeno en agua líquida sólo requiere alrededor de 4.5 kcal/mol, menos de 5% de la energía necesaria para romper un enlace O—H covalente.

FIGURA 2–2 **Izquierda:** asociación de dos moléculas de agua dipolares mediante un enlace de hidrógeno (línea punteada). **Derecha:** agrupación de cuatro moléculas de agua con enlaces de hidrógeno. Note que el agua puede servir de manera simultánea como donador y como aceptor de hidrógeno.

FIGURA 2–3 **Los grupos polares adicionales participan en la formación de enlaces de hidrógeno.** Se muestran los enlaces de hidrógeno formados entre alcohol y agua, entre dos moléculas de etanol, y entre el péptido carbonilo oxígeno y el péptido nitrógeno hidrógeno de un aminoácido adyacente.

La formación de enlaces de hidrógeno permite al agua disolver muchas biomoléculas orgánicas que contienen grupos funcionales que pueden participar en la formación de enlaces de hidrógeno. Los átomos de oxígeno de aldehídos, cetonas y amidas, por ejemplo, proporcionan pares solitarios de electrones que tienen la capacidad de servir como aceptores de hidrógeno. Los alcoholes, los ácidos carboxílicos y las aminas pueden servir como aceptores de hidrógeno y como donadores de átomos de hidrógeno desprotegidos para formación de enlaces de hidrógeno (**figura 2-3**).

LA INTERACCIÓN CON AGUA INFLUYE SOBRE LA ESTRUCTURA DE BIOMOLÉCULAS

Los enlaces covalentes y no covalentes estabilizan moléculas biológicas

El enlace covalente es la mayor fuerza que mantiene juntas a las moléculas (**cuadro 2-1**). Las fuerzas no covalentes, aunque son de menor magnitud, hacen contribuciones importantes a la estructura, estabilidad y competencia funcional de macromoléculas en

CUADRO 2–1 **Energías de enlace para átomos de importancia biológica**

Tipo de enlace	Energía (kcal/mol)	Tipo de enlace	Energía (kcal/mol)
O—O	34	O═O	96
S—S	51	C—H	99
C—N	70	C═S	108
S—H	81	O—H	110
C—C	82	C═C	147
C—O	84	C═N	147
N—H	94	C═O	164

las células vivas. Estas fuerzas, que pueden ser de atracción o de repulsión, comprenden interacciones tanto dentro de la biomolécula como entre la misma y el agua, que es el principal componente del ambiente circundante.

Las biomoléculas se pliegan para colocar a grupos polares y cargados sobre sus superficies

Casi todas las biomoléculas son **anfipáticas**; esto es, poseen regiones con alto contenido de grupos funcionales cargados o polares, así como regiones con carácter hidrofóbico. Las proteínas tienden a plegarse con los grupos R de aminoácidos con cadenas laterales hidrofóbicas en el interior. Los aminoácidos con cadenas laterales de aminoácidos cargadas o polares (p. ej., arginina, glutamato, serina) por lo general están presentes sobre la superficie en contacto con agua. Un modelo similar prevalece en una bicapa de fosfolípidos, donde los grupos con cabeza cargada de fosfatidil serina o fosfatidil etanolamina tienen contacto con agua, mientras que sus cadenas laterales de ácido (acilo) graso hidrofóbicas se agrupan juntas y excluyen el agua. Este modelo maximiza las oportunidades para la formación de interacciones de carga-dipolo, dipolo-dipolo, y formación de enlaces de hidrógeno, favorables desde el punto de vista energético entre grupos polares sobre la biomolécula y el agua. También minimiza contactos desfavorables desde el punto de vista energético entre el agua y grupos hidrofóbicos.

Interacciones hidrofóbicas

El término "interacción hidrofóbica" (o hidrófoba) alude a la tendencia de compuestos no polares a autoasociarse en un ambiente acuoso. Tal autoasociación no está impulsada por atracción mutua ni por lo que a veces es denominado de manera incorrecta como "enlaces hidrofóbicos". La autoasociación minimiza la disrupción de interacciones desfavorables desde el punto de vista energético entre las moléculas de agua circundantes.

Dado que los hidrógenos de grupos no polares —como los grupos metileno de hidrocarburos— no forman enlaces de hidrógeno, afectan la estructura del agua que los rodea. Las moléculas de agua adyacentes a un grupo hidrofóbico tienen restricción en cuanto al número de orientaciones (grados de libertad) que les permiten participar en el número máximo de enlaces de hidrógeno favorables desde el punto de vista energético. La formación máxima de múltiples enlaces de hidrógeno, que maximiza la entalpía, sólo puede mantenerse al aumentar el orden de las moléculas de agua adyacentes, con un decremento acompañante de la entropía.

La segunda ley de la termodinámica establece que la energía libre óptima de una mezcla de hidrocarburo-agua está en función tanto de la entalpía máxima (por formación de enlaces de hidrógeno) como de la entropía mínima (grados máximos de libertad). De este modo, las moléculas no polares tienden a formar gotitas a fin de minimizar el área de superficie expuesta y reducir el número de moléculas de agua cuya libertad de movimiento se restringe. De modo similar, en el ambiente acuoso de la célula viva las porciones hidrofóbicas de biopolímeros tienden a estar sepultadas dentro de la estructura de la molécula o dentro de una bicapa lípida, lo que minimiza el contacto con agua.

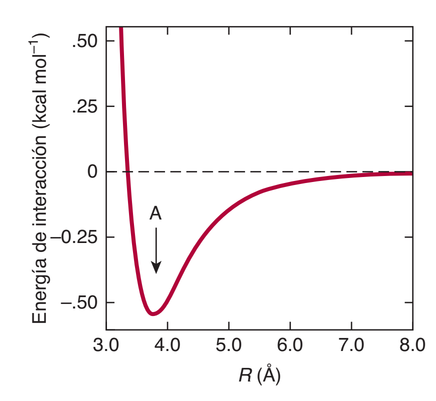


FIGURA 2–4 La fuerza de las interacciones de van der Waals varía con la distancia, *R*, entre especies que interactúan. La fuerza de interacción entre especies que interactúan aumenta con la distancia decreciente hasta que son separadas por la distancia de contacto de van der Waals (véase la flecha marcada con A). A continuación sobreviene repulsión debida a la interacción entre los electrones de cada átomo o molécula. Si bien las interacciones de van der Waals son en extremo débiles, el efecto acumulativo es considerable para macromoléculas como DNA y proteínas con muchos átomos en contacto estrecho.

Interacciones electrostáticas

Las interacciones entre grupos cargados ayudan a dar forma a la estructura biomolecular. Las interacciones electrostáticas entre grupos con carga opuesta dentro de biomoléculas o entre las mismas se denominan **puentes de sal**, los cuales tienen fuerza comparable a la de los enlaces de hidrógeno, pero actúan en distancias mayores; por ende, a menudo facilitan el enlace de moléculas y iones cargados a proteínas y ácidos nucleicos.

Fuerzas de van der Waals

Surgen por atracciones entre dipolos transitorios generados por el movimiento rápido de electrones de todos los átomos neutros. Las fuerzas de van der Waals —mucho más débiles que los enlaces de hidrógeno, pero abundantes— disminuyen en términos de la sexta potencia de la distancia que separa a los átomos (**figura 2-4**). De este modo, actúan en distancias muy cortas, por lo general de 2 a 4 Å.

Fuerzas múltiples estabilizan biomoléculas

La doble hélice de DNA ilustra la contribución de múltiples fuerzas a la estructura de biomoléculas. Si bien cada cadena de DNA individual se mantiene junta por medio de enlaces covalentes, las dos hebras de la hélice se mantienen unidas de manera exclusiva mediante interacciones no covalentes. Estas últimas comprenden enlaces de hidrógeno entre bases de nucleótido (formación de pares de bases de Watson-Crick) e interacciones de van der Waals entre las bases de purina y pirimidina apiladas. La doble hélice presenta los grupos fosfato cargados y grupos hidroxilo polares de los azúcares ribosa del esqueleto del DNA a agua mientras que sepulta dentro las bases nucleótido relativamente hidrofóbicas. El esqueleto extendido maximiza la distancia entre fosfatos que tienen carga negativa, lo que minimiza interacciones electrostáticas desfavorables.

EL AGUA ES UN EXCELENTE NUCLEÓFILO

Las reacciones metabólicas a menudo comprenden el ataque por pares solitarios de electrones que residen sobre moléculas ricas en electrones llamadas **nucleófilos** sobre átomos con pocos electrones llamados **electrófilos**. Los nucleófilos y electrófilos no necesariamente poseen una carga negativa o positiva formal. El agua, cuyos dos pares solitarios de electrones *sp*³ tienen una carga negativa parcial (figura 2-1), es un excelente nucleófilo. Otros nucleófilos de importancia biológica son los átomos de oxígeno de fosfatos, alcoholes y ácidos carboxílicos; el azufre de tioles; el nitrógeno de aminas, y el anillo imidazol de la histidina. Los electrófilos comunes son los carbonos carbonilo en amidas, ésteres, aldehídos y cetonas, y los átomos de fósforo de fosfoésteres.

El ataque nucleofílico por agua en forma típica origina la división de los enlaces amida, glucósido o éster que mantienen juntos a los biopolímeros. Este proceso recibe el nombre de **hidrólisis**. A la inversa, cuando unidades de monómeros se unen para formar biopolímeros como proteínas o glucógeno, el agua es un producto, por ejemplo, durante la formación de un enlace peptídico entre dos aminoácidos:

$^{+}H_3N$ O OH + H NH O^- O
Alanina
Valina
H_2O
$^{+}H_3N$ O NH O^- O

Si bien la hidrólisis es una reacción favorecida desde el punto de vista termodinámico, los enlaces amida y fosfoéster de polipéptidos y oligonucleótidos son estables en el ambiente acuoso de la célula. Esta conducta al parecer paradójica refleja el heho de que la termodinámica que rige el equilibrio de una reacción no determina el índice al cual procederá. En las células, catalíticos proteína llamados **enzimas** aceleran el índice de reacciones hidrolíticas cuando es necesario. Las **proteasas** catalizan la hidrólisis de proteínas hacia los aminoácidos que las componen, mientras que las **nucleasas** catalizan la hidrólisis de los enlaces fosfoéster en el DNA y el RNA. Se requiere control cuidadoso de las actividades de estas enzimas para asegurar que sólo actúen sobre moléculas blanco apropiadas en momentos apropiados.

Muchas reacciones metabólicas comprenden transferencia de grupo

Muchas de las reacciones enzimáticas de las cuales dependen la síntesis y desintegración de biomoléculas comprenden la transferencia de un grupo químico G desde un donador D hacia un aceptor A para formar un complejo de grupo aceptor, A—G:

$$\text{D—G} + \text{A} \rightleftarrows \text{A—G} + \text{D}$$

Por ejemplo, la hidrólisis y la fosforólisis de glucógeno comprenden la transferencia de grupos glucosilo a agua o a ortofosfato. La constante de equilibrio para la hidrólisis de enlaces covalentes favorece fuertemente la formación de productos de división. Por el contrario, en muchos casos las reacciones de transferencia de grupo de las cuales depende la biosíntesis de macromoléculas comprenden la formación no favorecida termodinámicamente de enlaces covalentes. Los catalíticos de enzimas desempeñan un papel crucial en la superación de estas barreras en virtud de su capacidad para enlazar directamente entre sí dos reacciones que en circunstancias normales están separadas. Al unir una reacción de transferencia de grupo energéticamente desfavorable con una reacción termodinámicamente favorable, como la hidrólisis de ATP, puede generarse una nueva reacción acoplada cuya carga *general* neta en energía libre favorece la síntesis de biopolímero.

Dado el carácter nucleofílico del agua y su alta concentración en las células, ¿por qué los biopolímeros como las proteínas y el DNA son relativamente estables?, además, ¿de qué modo la síntesis de biopolímeros puede ocurrir en un ambiente acuoso, en apariencia prohidrolítico? Las propiedades de las enzimas son fundamentales para ambas preguntas. En ausencia de catálisis enzimática, incluso las reacciones muy favorecidas desde el punto de vista termodinámico no necesariamente tienen lugar con rapidez. El control preciso y diferencial de la actividad enzimática, así como el secuestro de enzimas en organelos específicos, determinan en qué condiciones fisiológicas un biopolímero dado se sintetizará o degradará. Los biopolímeros recién sintetizados no se hidrolizan de inmediato, ya que los sitios activos de enzimas biosintéticas secuestran sustratos en un ambiente del cual es factible excluir al agua.

Las moléculas de agua muestran una tendencia leve pero importante a disociarse

La capacidad del agua para ionizarse, si bien es leve, tiene importancia fundamental para la vida. Dado que el agua tiene la capacidad de actuar como un ácido y como una base, su ionización puede representarse como una transferencia de protón intermolecular que forma un ion hidronio (H_3O^+) y un ion hidróxido (OH^-):

$$H_2O + H_2O \rightleftarrows H_3O^+ + OH^-$$

El protón transferido en realidad se relaciona con una agrupación de moléculas de agua. Los protones existen en solución no sólo como H_3O^+, sino también como multímeros tipo $H_5O_2^+$ y $H_7O_3^+$. Sin embargo, el protón se representa de manera sistemática como H^+, aun cuando de hecho está muy hidratado.

Dado que los iones hidronio e hidróxido se recombinan de manera continua para formar moléculas de agua, es imposible declarar que un hidrógeno u oxígeno *individual* está presente como un ion o formando parte de una molécula de agua. En un instante es un ion, pero al siguiente forma parte de una molécula de agua; de modo que no se consideran iones o moléculas individuales. En lugar de eso, se hace referencia a la *probabilidad* de que en cualquier instante en el tiempo un hidrógeno estará

presente como ion o como parte de una molécula de agua. Dado que 1 g de agua contiene 3.46 × 10^{22} moléculas, la ionización del agua puede describirse de manera estadística. Declarar que la probabilidad de que un hidrógeno exista como un ion es de 0.01 significa que, en cualquier momento dado en el tiempo, un átomo de hidrógeno tiene 1 probabilidad en 100 de ser un ion pero 99 probabilidades en 100 de formar parte de una molécula de agua. La probabilidad real de que un átomo de hidrógeno en agua pura exista como un ion hidrógeno es de alrededor de 1.8 × 10^{-9}. De este modo, la probabilidad de que forme parte de una molécula de agua es de casi la unidad. Dicho de otra manera, por cada ion hidrógeno y cada ion hidróxido en agua pura, hay 1.8 mil millones o 1.8 × 10^9 moléculas de agua. Sin embargo, los iones hidrógeno y los iones hidróxido contribuyen de manera importante a las propiedades del agua.

Para la disociación del agua,

$$K = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]}$$

donde los corchetes representan concentraciones molares (estrictamente hablando, actividades molares) y K es la **constante de disociación**. Puesto que un mol de agua pesa 18 g, 1 litro (L) (1 000 g) de agua contiene 1 000 ÷ 18 = 55.56 mol. Así, el agua pura es 55.56 molar. Dado que la probabilidad de que un hidrógeno en agua pura exista como un ion hidrógeno es de 1.8 × 10^{-9}, la concentración molar de iones H^+ (o de iones OH^-) en agua pura es el producto de la probabilidad, 1.8 × 10^{-9}, veces la concentración molar de agua, 55.56 mol/L. El resultado es 1.0 × 10^{-7} mol/L.

Ahora es posible calcular K para el agua pura:

$$K = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]} = \frac{[10^{-7}][10^{-7}]}{[55.56]}$$
$$= 0.018 \times 10^{-14} = 1.8 \times 10^{-16} \text{mol/L}$$

La concentración molar del agua, 55.56 mol/L, es demasiado grande como para que la disociación la afecte de manera significativa, de modo que se considera que, en esencia, es constante. Así, esta constante puede incorporarse en la constante de disociación K para proporcionar una nueva y útil constante K_w (W, de *water*, "agua") llamada el **producto ion** para el agua. La relación entre K_w y K se muestra a continuación:

$$K = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]} = 1.8 \times 10^{-16} \text{mol/L}$$
$$K_w = (K)[H_2O] = [H^+][OH^-]$$
$$= (1.8 \times 10^{-16} \text{mol/L})(55.56 \text{ mol/L})$$
$$= 1.00 \times 10^{-14} (\text{mol/L})^2$$

Note que las dimensiones de K son mol por litro y las de K_w son mol^2 por L^2. Como su nombre lo sugiere, el producto ion K_w es igual desde el punto de vista numérico al producto de las concentraciones molares de H^+ y OH^-:

$$K_w = [H^+][OH^-]$$

A 25°C, $K_w = (10^{-7})^2$, o 10^{-14} $(mol/L)^2$; a temperaturas por debajo de 25°C, K_w es un poco menor de 10^{-14}, en tanto que a temperaturas superiores a 25°C es un poco mayor de 10^{-14}. Dentro de las limitaciones declaradas del efecto de la temperatura, K_w es igual a 10^{-14} $(mol/L)^2$ para todas las soluciones acuosas, incluso soluciones de ácidos o bases. Se usa K_w para calcular el pH de soluciones ácidas y básicas.

EL pH ES EL LOGARITMO NEGATIVO DE LA CONCENTRACIÓN DE ION HIDRÓGENO

El término **pH** fue introducido en 1909 por Sörensen, quien lo definió como el logaritmo negativo de la concentración de ion hidrógeno:

$$pH = -\log [H^+]$$

Esta definición, si bien no es rigurosa, es suficiente para muchos propósitos bioquímicos; a fin de calcular el pH de una solución:

1. Se calcula la concentración de ion hidrógeno $[H^+]$.
2. Se calcula el logaritmo base 10 de $[H^+]$.
3. El pH es el negativo del valor que se encuentra en el paso 2.

Por ejemplo, para agua pura a 25°C,

$$pH = -\log [H^+] = -\log 10^{-7} = -(-7) = 7.0$$

Este valor también se conoce como la *potencia* (*power* [inglés], *puissant* [francés], o *potennz* [alemán]) del exponente, de ahí el uso de "p".

Los valores de pH bajos corresponden a concentraciones altas de H^+, y los valores de pH altos corresponden a concentraciones bajas de H^+.

Los ácidos son **donadores de protones** y las bases son **aceptores de protones**. Los **ácidos fuertes** (p. ej., HCl, H_2SO_4) se disocian por completo hacia aniones y protones, incluso en soluciones fuertemente acídicas (pH bajo); por su parte, los **ácidos débiles** se disocian sólo en parte en soluciones acídicas. De modo similar, las **bases fuertes** (p. ej., KOH, NaOH) —no así las **bases débiles** (p. ej., $Ca[OH]_2$)— están por completo disociadas a pH alto. Muchas sustancias bioquímicas son ácidos débiles. Las excepciones son los intermediarios fosforilados, cuyo grupo fosforilo contiene dos protones disociables, el primero de los cuales es fuertemente acídico. Los ejemplos que siguen ilustran cómo calcular el pH de soluciones ácidas y básicas.

Ejemplo 1: ¿Cuál es el pH de una solución cuya concentración de ion hidrógeno es de 3.2 × 10^{-4} mol/L?

$$pH = -\log [H^+]$$
$$= -\log (3.2 \times 10^{-4})$$
$$= -\log (3.2) - \log (10^{-4})$$
$$= -0.5 + 4.0$$
$$= 3.5$$

Ejemplo 2: ¿Cuál es el pH de una solución cuya concentración de ion hidróxido es de 4.0 × 10^{-4} mol/L? Primero se define una cantidad **pOH** que es igual a –log $[OH^-]$ y que puede derivarse a partir de la definición de K_w:

$$K_w = [H^+][OH^-] = 10^{-14}$$

Por ende,

$$\log[H^+] + \log[OH^-] = \log 10^{-14}$$

o bien

$$pH + pOH = 14$$

Para resolver el problema mediante este método:

$$\begin{aligned}\left[OH^-\right] &= 4.0 \times 10^{-4}\\ pOH &= -\log\left[OH^-\right]\\ &= -\log\left(4.0 \times 10^{-4}\right)\\ &= -\log(4.0) - \log\left(10^{-4}\right)\\ &= -0.60 + 4.0\\ &= 3.4\end{aligned}$$

Ahora:

$$\begin{aligned}pH &= 14 - pOH = 14 - 3.4\\ &= 10.6\end{aligned}$$

Los ejemplos anteriores ilustran de que modo la escala de pH logarítmica facilita la emisión de reporte y la comparación de concentraciones de ion hidrógeno que difieren por órdenes de magnitud de otra, esto es, 0.00032 M (pH 3.5) y 0.000000000025 M (pH 10.6).

Ejemplo 3: ¿Cuáles son los valores de pH de a) 2.0×10^{-2} mol/L KOH y de b) 2.0×10^{-6} mol/L KOH? El OH^- surge a partir de dos fuentes: KOH y agua. Dado que el pH está determinado por el $[H^+]$ total (y el pOH por el $[OH^-]$ total), ambas fuentes deben considerarse. En el primer caso, a), la contribución del agua al $[OH^-]$ total es insignificante; es imposible decir lo mismo para el segundo caso, b):

	Concentración (mol/L)	
	(a)	(b)
Molaridad de KOH	2.0×10^{-2}	2.0×10^{-6}
$[OH^-]$ proveniente de KOH	2.0×10^{-2}	2.0×10^{-6}
$[OH^-]$ proveniente de agua	1.0×10^{-7}	1.0×10^{-7}
$[OH^-]$ total	2.00001×10^{-2}	2.1×10^{-6}

Una vez que se ha llegado a una decisión acerca de la importancia de la contribución por el agua, es factible calcular el pH como se mencionó.

Los ejemplos anteriores suponen que la base fuerte KOH está por completo disociada en solución y que, entonces, la concentración de iones OH^- fue igual a la del KOH más la presente al principio en el agua. Esta suposición es válida para soluciones diluidas de bases o ácidos fuertes, no así para bases o ácidos débiles. Dado que los electrólitos débiles sólo se disocian un poco en solución, es necesario usar la **constante de disociación** para calcular la concentración de $[H^+]$ (o de $[OH^-]$) producida por una molaridad dada de un ácido (o base) débil antes de calcular el $[H^+]$ total (o el $[OH^-]$ total) y después el pH.

Los grupos funcionales que son ácidos débiles tienen gran importancia fisiológica

Muchas sustancias bioquímicas poseen grupos funcionales que son ácidos o bases débiles. Los grupos carboxilo, los grupos amino y los ésteres fosfato, cuya segunda disociación cae dentro del rango fisiológico, están presentes en proteínas y ácidos nucleicos, en casi todas las coenzimas y en casi todos los metabolitos intermediarios. De este modo, el conocimiento de la disociación de ácidos y bases débiles es básico para entender la influencia del pH intracelular sobre la estructura y la actividad biológica. Las separaciones basadas en carga, como la electroforesis y la cromatografía de intercambio iónico, también se entienden mejor en términos de la conducta de disociación de grupos funcionales.

La especie protonada (p. ej., HA o $R—NH_3^+$) recibe la denominación de **ácido**, en tanto que la especie no protonada (p. ej., A^- o $R—NH_2$) es su **base conjugada**. De modo similar, puede hacerse referencia a una **base** (p. ej., A^- o $R—NH_2$) y su **ácido conjugado** (p. ej., HA o $R—NH_3^+$). Los ácidos débiles representativos (columna izquierda), sus bases conjugadas (al centro) y valores de pK_a (columna derecha) incluyen los siguientes:

$R—CH_2—COOH$	$R—CH_2—COO^-$	$pK_a = 4 - 5$
$R—CH_2—NH_3^+$	$R—CH_2—NH_2$	$pK_a = 9 - 10$
H_2CO_3	HCO_3^-	$pK_a = 6.4$
$H_2PO_4^-$	HPO_4^{-2}	$pK_a = 7.2$

Las fuerzas relativas de ácidos y bases débiles se expresan en función de sus constantes de disociación. A continuación se muestran las expresiones para la constante de disociación (K_a) para dos ácidos débiles representativos, R—COOH y $R—NH_3^+$.

$$R—COOH \rightleftarrows R—COO^- + H^+$$

$$K_a = \frac{\left[R—COO^-\right]\left[H^+\right]}{\left[R—COOH\right]}$$

$$R—NH_3^+ \rightleftarrows R—NH_2 + H^+$$

$$K_a = \frac{\left[R—NH_2\right]\left[H^+\right]}{\left[R—NH_3^+\right]}$$

Dado que los valores numéricos de K_a para ácidos débiles son números exponenciales negativos, K_a se expresa como pK_a, donde

$$pK_a = -\log K_a$$

Note que pK_a se relaciona con K_a como el pH se relaciona con $[H^+]$. Mientras más fuerte es el ácido, más bajo es el valor de pK_a.

La pK_a se usa para expresar las fuerzas relativas tanto de ácidos como de bases. Para cualquier ácido débil, su conjugado es una base fuerte; de modo similar, el conjugado de una base fuerte es un ácido débil. **Las fuerzas relativas de bases se expresan en términos de la pK_a de sus ácidos conjugados.** Para compuestos polipróticos que contienen más de un protón disociable, se asigna un número subíndice a cada disociación, comenzando a partir de la unidad en orden decreciente de acidez relativa. Para una disociación del tipo

$$R—NH_3^+ \rightarrow R—NH_2 + H^+$$

la pK_a es el pH al cual la concentración del ácido $R—NH_3^+$ es igual a la de la base $R—NH_2$.

A partir de las ecuaciones anteriores que relacionan la K_a con el $[H^+]$ y con las concentraciones de ácido no disociado y su base conjugadas, cuando

$$\left[R—COO^-\right] = \left[R—COOH\right]$$

o cuando

$$[R—NH_2] = [R—NH_3^+]$$

entonces

$$K_a = [H^+]$$

De este modo, cuando las especies asociada (protonada) y disociada (base conjugada) están presentes a iguales concentraciones, la concentración de ion hidrógeno $[H^+]$ prevaleciente es igual desde el punto de vista numérico a la constante de disociación, K_a. Si se toman los logaritmos de ambos lados de la ecuación anterior y se multiplican por −1, las expresiones quedan como sigue:

$$K_a = [H^+]$$
$$-\log K_a = -\log[H^+]$$

Dado que $-\log K_a$ se define como pK_a y $-\log [H^+]$ define al pH, la ecuación puede reescribirse como

$$pK_a = pH$$

esto es, **la pK_a de un grupo ácido es el pH al cual las especies protonada y no protonada están presentes a concentraciones iguales.** La pK_a para un ácido puede determinarse al añadir 0.5 equivalente de álcali por equivalente de ácido. El pH resultante será igual a la pK_a del ácido.

La ecuación de Henderson-Hasselbalch describe el comportamiento de ácidos débiles y amortiguadores

La ecuación de Henderson-Hasselbalch se deduce a continuación.

Un ácido débil, HA, se ioniza como sigue:

$$HA \rightleftarrows H^+ + A^-$$

La constante de equilibrio para esta disociación es

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

La multiplicación cruzada da

$$[H^+][A^-] = K_a[HA]$$

Se dividen ambos lados por $[A^-]$:

$$[H^+] = K_a \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Se toma el logaritmo de ambos lados:

$$\log[H^+] = \log\left(K_a \frac{[HA]}{[A^-]}\right)$$
$$= \log K_a + \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Se multiplica todo por −1:

$$-\log[H^+] = -\log K_a - \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Se sustituye el pH y la pK_a para $-\log [H^+]$ y $-\log K_a$, respectivamente; entonces:

$$pH = pK_a - \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

La inversión del último término elimina el signo de menos y da la **ecuación de Henderson-Hasselbalch**:

$$\mathbf{pH = p}\boldsymbol{K}_\mathbf{a} \mathbf{+ \log \frac{[A^-]}{[HA]}}$$

La ecuación de Henderson-Hasselbalch tiene gran valor predictivo en equilibrios protónicos. Por ejemplo,

1. Cuando exactamente la mitad de un ácido está neutralizada, $[A^-] = [HA]$. En estas condiciones,

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]} = pK_a + \log\left(\frac{1}{1}\right) = pK_a + 0$$

Por ende, cuando la mitad de un ácido está neutralizada, $pH = pK_a$.

2. Cuando la proporción $[A^-]/HA] = 100:1$,

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$
$$pH = pK_a + \log (100/1) = pK_a + 2$$

3. Cuando la proporción $[A^-]/HA] = 1:10$,

$$pH = pK_a + \log (1/10) = pK_a + (-1)$$

Si la ecuación se evalúa a proporciones de $[A^-]/[HA]$ que varían desde 10^3 hasta 10^{-3} y se grafican los valores de pH calculados, el gráfico resultante describe la curva de titulación para un ácido débil (**figura 2-5**).

Las soluciones de ácidos débiles y sus sales amortiguan cambios del pH

Las soluciones de ácidos o bases débiles y sus conjugados muestran **amortiguación**, la capacidad para resistir a un cambio del pH después de la adición de un ácido o una base fuerte. Dado que muchas reacciones metabólicas se acompañan de liberación o captación de protones, casi todas las reacciones intracelulares están amortiguadas. El metabolismo oxidativo produce CO_2, el anhídrido del ácido carbónico, que de no amortiguarse produciría acidosis grave. El mantenimiento de un pH constante comprende amortiguación mediante fosfato, bicarbonato y proteínas, que aceptan o liberan protones para resistir a un cambio del pH. En experimentos donde se usan extractos de tejido o enzimas, el pH constante se mantiene por medio de la adición de amortiguadores como MES (ácido [2-*N*-morfolino]-etanosulfónico, pK_a 6.1), ortofosfato inorgánico (pK_{a2} 7.2), HEPES (ácido *N*-hidroxietilpiperazina-*N*′-2-etanosulfónico, pK_a 6.8) o Tris (tris[hidroximetil]aminometano, pK_a 8.3). El valor de pK_a respecto al pH deseado es el principal determinante de cuál amortiguador se selecciona.

La amortiguación se observa al usar un medidor de pH mientras se titula un ácido o una base débil (**figura 2-5**). También es

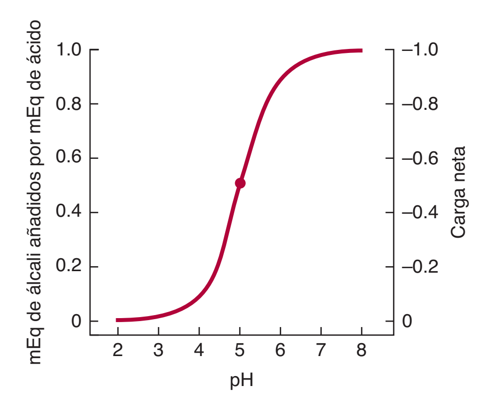


FIGURA 2–5 Curvas de titulación para un ácido del tipo HA. El punto grueso, en el centro de la curva, indica la pK_a de 5.0.

factible calcular la desviación de pH que acompaña a la adición de ácido o base a una solución amortiguada. En el ejemplo, la solución amortiguada (un ácido débil, pK_a = 5.0, y su base conjugada) se encuentra, al inicio, en uno de cuatro valores de pH; se calcula el cambio de pH producido cuando se añaden 0.1 mEq de KOH a 1 mEq de cada solución:

pH inicial	5.00	5.37	5.60	5.86
$[A^-]_{inicial}$	0.50	0.70	0.80	0.88
$[HA]_{inicial}$	0.50	0.30	0.20	0.12
$([A^-]/[HA])_{inicial}$	1.00	2.33	4.00	7.33
La adición de 0.1 mEq de KOH produce				
$[A^-]_{final}$	0.60	0.80	0.90	0.98
$[HA]_{final}$	0.40	0.20	0.10	0.02
$([A^-]/[HA])_{final}$	1.50	4.00	9.00	49.0
$\log ([A^-]/[HA])_{final}$	0.18	0.60	0.95	1.69
pH final	5.18	5.60	5.95	6.69
ΔpH	**0.18**	**0.60**	**0.95**	**1.69**

Note que el cambio de pH por mEq de OH^- añadido depende del pH inicial. La solución se resiste a cambios del pH con mayor eficacia a valores de pH cercanos a la pK_a. **Una solución de un ácido débil y su base conjugada amortigua de manera más eficaz en el rango de pH de pK_a ± 1.0 unidades de pH.**

La figura 2-5 también ilustra la carga neta en una molécula del ácido como una función del pH. Una carga fraccionaria de −0.5 no significa que una molécula individual porta una carga fraccionaria sino que la *probabilidad* es de 0.5 de que una molécula dada tenga una carga negativa de unidad en cualquier momento dado en el tiempo. La consideración de la carga neta sobre macromoléculas como una función del pH proporciona la base para técnicas de separación, como la cromatografía de intercambio de ion y la electroforesis.

La fuerza del ácido depende de la estructura molecular

Muchos ácidos de interés biológico poseen más de un grupo que se disocia. La presencia de carga negativa adyacente obstaculiza la liberación de un protón desde un grupo cercano, lo que aumenta su pK_a. Esto queda de manifiesto a partir de los valores de pK_a para los tres grupos que se pueden disociar de ácido fosfórico y ácido cítrico (**cuadro 2-2**). El efecto de la carga adyacente disminuye con la distancia. La segunda pK_a para el ácido succínico, que tiene dos grupos metileno entre sus grupos carboxilo, es de 5.6, mientras que la segunda pK_a para el ácido glutárico, que tiene un grupo metileno adicional, es de 5.4.

CUADRO 2–2 Fuerzas relativas de ácidos seleccionados de importancia biológica[1]

Ácidos monopróticos		
Fórmico	pK	3.75
Láctico	pK	3.86
Acético	pK	4.76
Ion amonio	pK	9.25
Ácidos dipróticos		
Carbónico	pK_1	6.37
	pK_2	10.25
Succínico	pK_1	4.21
	pK_2	5.64
Glutárico	pK_1	4.34
	pK_2	5.41
Ácidos tripróticos		
Fosfórico	pK_1	2.15
	pK_2	6.82
	pK_3	12.38
Cítrico	pK_1	3.08
	pK_2	4.74
	pK_3	5.40

[1] **Nota:** los valores tabulados son los valores de pK_a (−log de la constante de disociación) de ácidos monopróticos, dipróticos y tripróticos seleccionados.

Los valores de pK_a dependen de las propiedades del medio

La pK_a de un grupo funcional también está profundamente influida por el medio circundante. El medio puede aumentar o disminuir la pK_a dependiendo de si el ácido no disociado o su base conjugada es la especie cargada. El efecto de la constante dieléctrica sobre la pK_a se observa al añadir etanol al agua. La pK_a de un ácido carboxílico *aumenta*, mientras que la de una amina *disminuye* porque el etanol aminora la capacidad del agua para solvatar una especie cargada. De este modo, los valores pK_a de grupos que se están disociando en los interiores de proteínas, están muy afectados por su ambiente local, lo que incluye la presencia o ausencia de agua.

RESUMEN

- El agua forma agrupaciones enlazadas por hidrógeno consigo misma y con otros donadores o aceptores de protones. Los enlaces de hidrógeno explican la tensión superficial, viscosidad, estado líquido a temperatura ambiente y el poder solvente del agua.
- Los compuestos que contienen O o N pueden servir como donadores o aceptores de enlaces de hidrógeno.
- Las macromoléculas intercambian enlaces de hidrógeno de superficie interna por enlaces de hidrógeno con agua. Las fuerzas entrópicas dictan que las macromoléculas exponen regiones polares a una interfaz acuosa y sepultan regiones no polares.
- Los puentes de sal, las interacciones hidrofóbicas y las fuerzas de van der Waals participan en el mantenimiento de la estructura molecular.
- El pH es el logaritmo negativo de $[H^+]$. Un pH bajo caracteriza a una solución ácida, mientras que un pH alto denota una solución básica.
- La fuerza de ácidos débiles se expresa mediante la pK_a, el logaritmo negativo de la constante de disociación de ácido. Los ácidos fuertes tienen valores de pK_a bajos, en tanto que los débiles muestran valores de pK_a altos.
- Los amortiguadores resisten a un cambio del pH cuando se producen o consumen protones. La capacidad amortiguadora máxima ocurre ± 1 unidad de pH a uno u otro lado de la pK_a. Los amortiguadores fisiológicos son bicarbonato, ortofosfato y proteínas.

REFERENCIAS

Reese KM: Whence came the symbol pH. Chem & Eng News 2004;82:64.

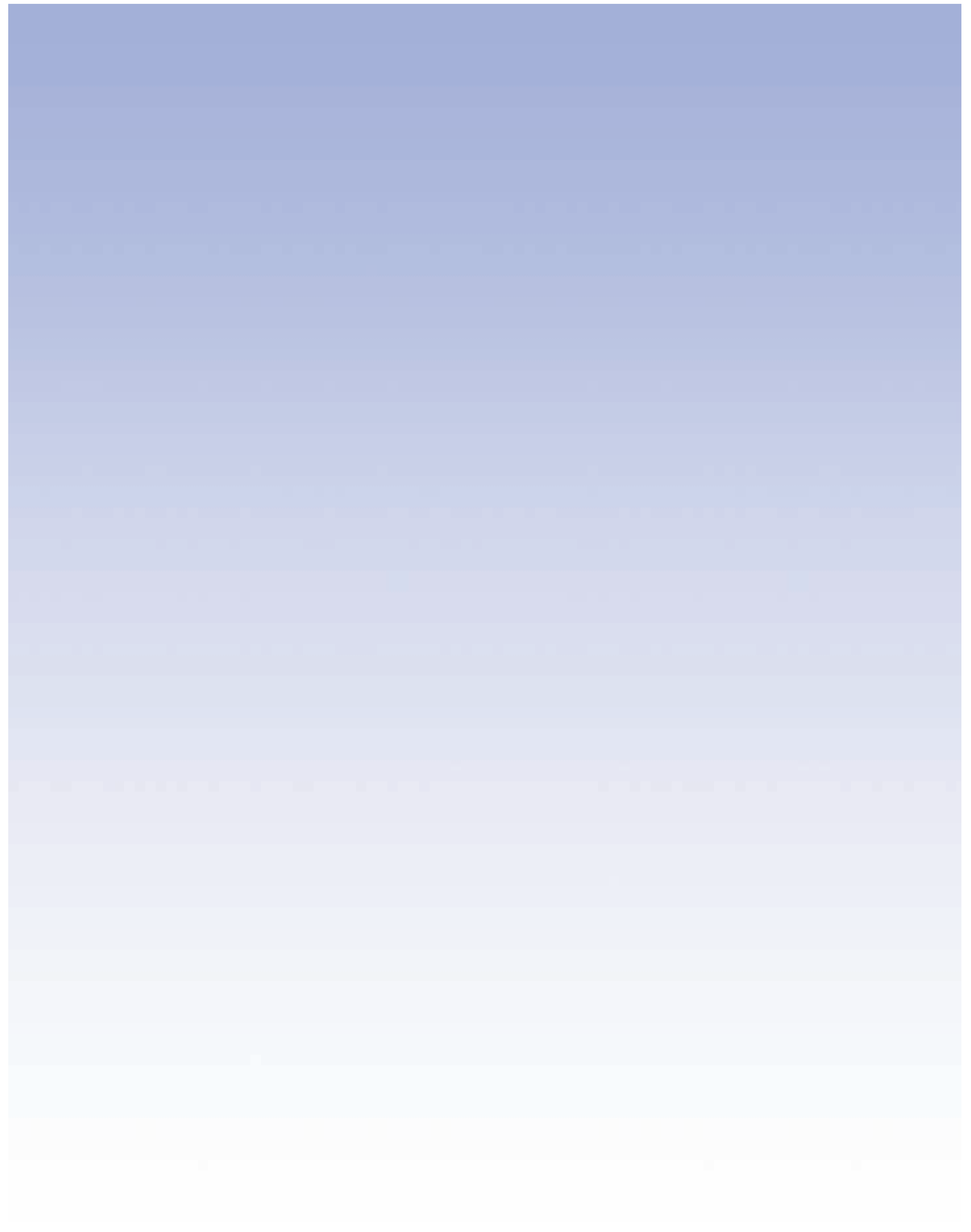
Segel IM: *Biochemical Calculations.* Wiley, 1968.

Skinner JL: Following the motions of water molecules in aqueous solutions. Science 2010;328:985.

Stillinger FH: Water revisited. Science 1980;209:451.

Suresh SJ, Naik VM: Hydrogen bond thermodynamic properties of water from dielectric constant data. J Chem Phys 2000;113:9727.

Wiggins PM: Role of water in some biological processes. Microbiol Rev 1990;54:432.



SECCIÓN I

Estructuras y funciones de proteínas y enzimas

CAPÍTULO 3

Aminoácidos y péptidos

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Nombrar los 20 aminoácidos presentes en proteínas, así como dibujar la estructura de ellos.
- Describir las designaciones de tres letras y de una letra para cada uno de los aminoácidos comunes.
- Listar los grupos ionizables de los aminoácidos comunes y sus valores de pK_a.
- Calcular el pH de una solución acuosa no amortiguada de un aminoácido polifuncional, y el cambio del pH que ocurre después de la adición de una cantidad dada de ácido o álcali fuerte.
- Definir el pI e indicar su relación con la carga neta en un electrólito polifuncional.
- Explicar cómo pueden usarse el pH, la pK_a y el pI para predecir la movilidad de un polielectrólito, como un aminoácido, en un campo eléctrico de corriente directa.
- Describir la contribución de cada tipo de grupo R de los aminoácidos comunes a sus propiedades químicas.
- Describir la direccionalidad, nomenclatura y estructura primaria de péptidos.
- Identificar el enlace en un péptido que muestre característica de doble enlace parcial, y sus consecuencias conformacionales en un péptido.
- Identificar los enlaces en el esqueleto peptídico que tienen capacidad de rotar libremente, y las letras griegas usadas para designarlos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Además de proporcionar las unidades monómero a partir de las cuales se sintetizan las cadenas polipeptídicas largas de proteínas, los L-α-aminoácidos y sus derivados participan en funciones celulares tan diversas como la transmisión nerviosa y la biosíntesis de porfirinas, purinas, pirimidinas y urea. Los polímeros cortos de aminoácidos llamados *péptidos* desempeñan funciones importantes en el sistema neuroendocrino como hormonas, factores liberadores de hormona, neuromoduladores o neurotransmisores. Los seres humanos y otros animales superiores carecen de la capacidad para sintetizar 10 de los 20 L-α-aminoácidos comunes en cantidades adecuadas para apoyar el crecimiento de lactantes o para mantener la salud en adultos. En consecuencia, la dieta del ser humano debe contener cantidades adecuadas de estos aminoácidos esenciales desde el punto de vista nutricional. Si bien las proteínas de ser humano sólo contienen L-α-aminoácidos, los microorganismos hacen uso extenso de D-α-aminoácidos. Por ejemplo, *Bacillus subtilis* secreta una mezcla de D-metionina, D-tirosina, D-leucina y D-triptófano para desencadenar el desmontaje de biopelícula, y *Vibrio cholerae* incorpora D-leucina y D-metionina en el componente peptídico de su capa de peptidoglucano. Muchas bacterias elaboran péptidos que contienen tanto D-α-aminoácidos como

L-α-aminoácidos, varios de los cuales poseen valor terapéutico, entre ellos los antibióticos bacitracina y gramicidina, y el agente antitumoral bleomicina. Algunos otros péptidos microbianos son tóxicos. Los péptidos cianobacterianos microcistina y nodularina son mortales en dosis grandes, mientras que las cantidades pequeñas promueven la formación de tumores hepáticos.

PROPIEDADES DE LOS AMINOÁCIDOS

El código genético específica 20 L-α-aminoácidos

De los más de 300 aminoácidos que existen de manera natural, 20 constituyen las unidades monómero de proteínas predominantes. Si bien un código genético de tres letras podría tener cabida para más de 20 aminoácidos, diversos aminoácidos son especificados por múltiples codones (ver cuadro 37-1). Su redundancia limita los codones disponibles a los 20 L-α-aminoácidos listados en el **cuadro 3-1**. Pueden usarse abreviaturas tanto de una como de tres letras para cada aminoácido a fin de representar los aminoácidos en péptidos y proteínas (cuadro 3-1). Algunas proteínas contienen aminoácidos adicionales que surgen por modificación de un aminoácido ya presente en un péptido. Los ejemplos incluyen conversión de peptidil prolina y lisina en 4-hidroxiprolina y 5-hidroxilisina; la conversión de peptidil glutamato en γ-carboxiglutamato, y la metilación, formilación, acetilación, prenilación y fosforilación de ciertos residuos aminoacilo. Dichas modificaciones extienden la diversidad biológica de las proteínas al alterar su solubilidad, estabilidad e interacción con otras proteínas.

Selenocisteína, el vigésimo primer L-α-aminoácido

La selenocisteína es un L-α-aminoácido que se encuentra en proteínas de cada dominio de vida. Los seres humanos contienen aproximadamente dos docenas de selenoproteínas que incluyen ciertas peroxidasas y reductasas, selenoproteína P que circula en el plasma, y las yodotironina desyodasas de las cuales depende la conversión de la prohormona tiroxina (T4) en la hormona tiroidea 3,3'5-triyodotironina (T3) (capítulo 41). Como su nombre lo indica, un átomo de selenio remplaza el azufre de su análogo estructural, cisteína. La pK_3 de la selenocisteína, 5.2, es tres

CUADRO 3–1 **L-α-aminoácidos presentes en proteínas**

Nombre	Símbolo	Fórmula estructural	pK_1	pK_2	pK_3
Con cadenas laterales alifáticas			**α-COOH**	**α-NH_3^+**	**Grupo R**
Glicina	Gli [G]	$H-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.4	9.8	
Alanina	Ala [A]	$CH_3-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.4	9.9	
Valina	Val [V]	$(H_3C)_2CH-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.2	9.7	
Leucina	Leu [L]	$(H_3C)_2CH-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.3	9.7	
Isoleucina	Ile [I]	$CH_3-CH_2-CH(CH_3)-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.3	9.8	
Con cadenas laterales que contienen grupos hidroxílicos (OH)					
Serina	Ser [S]	$CH_2(OH)-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.2	9.2	alrededor de 13
Treonina	Tre [T]	$CH_3-CH(OH)-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.1	9.1	alrededor de 13
Tirosina	Tir [Y]	Véase más adelante			

(*continúa*)

CUADRO 3–1 L-α-aminoácidos presentes en proteínas (*continuación*)

Nombre	Símbolo	Fórmula estructural	pK_1	pK_2	pK_3
Con cadenas laterales que contienen átomos de azufre			**α-COOH**	**α-NH_3^+**	**Grupo R**
Cisteína	Cis [C]	$CH_2(SH)-CH(NH_3^+)-COO^-$	1.9	10.8	8.3
Metionina	Met [M]	$CH_3-S-CH_2-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.1	9.3	
Con cadenas laterales que contienen grupos acídicos o sus amidas					
Ácido aspártico	Asp [D]	$^-OOC-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.1	9.9	3.9
Asparagina	Asn [N]	$H_2N-C(=O)-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.1	8.8	
Ácido glutámico	Glu [E]	$^-OOC-CH_2-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.1	9.5	4.1
Glutamina	Gln [Q]	$H_2N-C(=O)-CH_2-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.2	9.1	
Con cadenas laterales que contienen grupos básicos					
Arginina	Arg [R]	$H-N(-C(=NH_2^+)-NH_2)-CH_2-CH_2-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	1.8	9.0	12.5
Lisina	Lis [K]	$CH_2(NH_3^+)-CH_2-CH_2-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.2	9.2	10.8
Histidina	His [H]	(anillo imidazol: HN, N) $-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	1.8	9.3	6.0
Que contienen anillos aromáticos					
Histidina	His [H]	Véase más adelante			
Fenilalanina	Fen [F]	(anillo bencénico) $-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.2	9.2	
Tirosina	Tir [Y]	HO–(anillo bencénico) $-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.2	9.1	10.1
Triptófano	Trp [W]	(anillo indol: N–H) $-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.4	9.4	
Iminoácido					
Prolina	Pro [P]	(anillo pirrolidina: $\overset{+}{N}H_2$) $-COO^-$	2.0	10.6	

$pK_1 = 2.09$ (α-COOH)
$pK_2 = 3.86$ (β-COOH)
$pK_3 = 9.82$ ($-NH_3^+$)

A En ácido fuerte (por debajo de pH 1); carga neta = +1

B Alrededor de pH 3; carga neta = 0

C Alrededor de pH 6–8; carga neta = –1

D En álcali fuerte (arriba de pH 11); carga neta = –2

FIGURA 3–1 Equilibrios protónicos del ácido aspártico.

unidades más baja que la de la cisteína. A diferencia de otros aminoácidos poco comunes, la selenocisteína no es el producto de una modificación postraduccional. Más bien, es insertada directamente en un polipéptido en crecimiento durante la traducción. De este modo, la selenocisteína suele denominarse el "vigésimo primer aminoácido"; sin embargo, a diferencia de otros 20 aminoácidos codificados genéticamente, la selenocisteína es especificada por un elemento genético de tamaño mucho mayor y más complejo que el codón de tres letras básico (capítulo 27).

En las proteínas sólo existen L-α-aminoácidos

Con la única excepción de la glicina, el carbono α de aminoácidos es quiral. Si bien algunos aminoácidos de proteínas son dextrorrotatorios y otros levorrotatorios, todos comparten la configuración absoluta de L-gliceraldehído y, así, son L-α-aminoácidos. Varios L-α-aminoácidos libres desempeñan importantes funciones en procesos metabólicos. Algunos ejemplos incluyen ornitina, citrulina y argininosuccinato, que participan en la síntesis de la urea; la tirosina en la formación de hormonas tiroideas, y el glutamato en la biosíntesis de neurotransmisor. Los D-aminoácidos que existen de manera natural incluyen la D-serina y el D-aspartato libres en el tejido cerebral, la D-alanina y el D-glutamato en las paredes celulares de bacterias grampositivas, y D-aminoácidos en ciertos péptidos y antibióticos producidos por bacterias, hongos, reptiles y algunas otras especies no mamíferas.

Los aminoácidos pueden tener carga neta positiva, negativa o de cero

Las formas cargada y no cargada de los grupos ácidos débiles —COOH y $—NH_3^+$ ionizables que existen en solución en equilibrio protónico:

$$R—COOH \rightleftarrows R—COO^- + H^+$$
$$R—NH_3^+ \rightleftarrows R—NH_2 + H^+$$

Si bien tanto el R—COOH como el $R—NH_3^+$ son ácidos débiles, R—COOH es un ácido mucho más fuerte que $R—NH_3^+$. A pH fisiológico (pH de 7.4), los grupos carboxilo existen casi por completo como $R—COO^-$ y los grupos amino de manera predominante como $R—NH_3^+$. La **figura 3-1** ilustra el efecto del pH sobre el estado cargado de ácido aspártico.

Las moléculas que contienen un igual número de grupos ionizables de carga opuesta y que, por ende, no portan carga neta, reciben el nombre de **zwitteriones**. De este modo, los aminoácidos en sangre y casi todos los tejidos deben representarse como en **A**, a continuación.

A **B**

La estructura **B** no puede existir en solución acuosa, porque a cualquier pH lo bastante bajo como para protonar el grupo carboxilo, también estaría protonado el grupo amino. De modo similar, a cualquier pH suficientemente alto como para que predomine un grupo amino no cargado, un grupo carboxilo estará presente como $R—COO^-$. Sin embargo, la representación **B** no cargada a menudo se usa para reacciones que no comprenden equilibrios protónicos.

Los valores de pK_a expresan las potencias de ácidos débiles

Las potencias ácidas de ácidos débiles se expresan como su pK_a. Para moléculas con múltiples protones disociables, la pK_a para cada grupo acídico es designada al remplazar la letra "a" subíndice por un número (cuadro 3-1). El grupo imidazol de la histidina y el grupo guanidino de la arginina existen como híbridos de resonancia con carga positiva distribuida entre ambos nitrógenos (histidina) o entre los tres nitrógenos (arginina) (**figura 3-2**). La carga neta de un aminoácido —la suma algebraica de todos los grupos con carga positiva y negativa presentes— depende de los valores de pK_a de sus grupos funcionales y del pH del medio circundante. Alterar la carga sobre aminoácidos y sus derivados al variar el pH facilita la separación física de aminoácidos, péptidos y proteínas (cap. 4).

A su pH isoeléctrico (pI), un aminoácido no porta carga neta

Los zwitteriones son un ejemplo de una especie **isoeléctrica**, la forma de una molécula que tiene un número igual de cargas

FIGURA 3-2 Híbridos de resonancia de las formas protonadas de los grupos R de la histidina y arginina.

positivas y negativas y, así, es neutral desde el punto de vista eléctrico. **El pH isoeléctrico, también llamado pI, es el pH a la mitad entre valores de pK_a para las ionizaciones a ambos lados de las especies isoeléctricas.** Para un aminoácido como la alanina que sólo tiene dos grupos que se disocian, no hay ambigüedad. La primera pK_a (R—COOH) es 2.35, y la segunda (R—NH_3^+) es 9.69; de este modo, el pH isoeléctrico (pI) de la alanina es

$$\text{pI} = \frac{\text{p}K_1 + \text{p}K_2}{2} = \frac{2.35 + 9.69}{2} = 6.02$$

Para ácidos polifuncionales, el pI también es el pH a la mitad entre los valores de pK_a en ambos lados de las especies isoiónicas. Así, por ejemplo, el pI para el ácido aspártico es

$$\text{pI} = \frac{\text{p}K_1 + \text{p}K_2}{2} = \frac{2.09 + 3.96}{2} = 3.02$$

Para la lisina, el pI se calcula a partir de:

$$\text{pI} = \frac{\text{p}K_2 + \text{p}K_3}{2}$$

Consideraciones similares se aplican a todos los ácidos polipróticos (p. ej., proteínas), al margen del número de grupos en disociación presentes. En el laboratorio clínico, el conocimiento del pI guía la selección de condiciones para separaciones electroforéticas; por ejemplo, la electroforesis a pH de 7.0 separará dos moléculas con valores de pI de 6.0 y 8.0, porque a pH de 7.0 la molécula con un pI de 6.0 tendrá una carga positiva neta, en tanto que aquella con un pI de 8.0 posee una carga negativa neta. Aplican consideraciones similares al entendimiento de separaciones cromatográficas sobre apoyos iónicos, como dietilaminoetil (DEAE) celulosa (cap. 4).

Los valores de pK_a varían con el ambiente

El ambiente de un grupo disociable afecta a su pK_a; así, los valores de pK_a de los grupos R de aminoácidos libres en solución acuosa (cuadro 3-1) sólo proporcionan una guía aproximada para los valores de pK_a de los mismos aminoácidos cuando están presentes en proteínas. Un ambiente polar favorece la forma cargada (R—COO^- o R—NH_3^+), y uno no polar, la forma no cargada (R—COOH o R—NH_2). De este modo, un ambiente no polar *aumenta* la pK_a de un grupo carboxilo (convirtiéndolo en un ácido más débil) pero *disminuye* la de un grupo amino (lo que hace que sea un ácido más fuerte). La presencia de grupos cargados adyacentes puede reforzar o contrarrestar efectos solventes, de manera que la pK_a de un grupo funcional dependerá de su localización dentro de una proteína dada. Las variaciones de la pK_a pueden abarcar unidades de pH enteras (**cuadro 3-2**). Los valores de pK_a que divergen de los listados por hasta tres unidades de pH son frecuentes en los sitios activos de enzimas. Un ejemplo extremo, un ácido aspártico sepultado de tiorredoxina, tiene una pK_a de más de 9 (una desviación de más de 6 unidades de pH).

CUADRO 3–2 Rango típico de valores de pK_a para grupos ionizables en proteínas

Grupo en disociación	Rango de pK_a
Carboxilo α	3.5 a 4.0
COOH no α de Asp o Glu	4.0 a 4.8
Imidazol de His	6.5 a 7.4
SH de Cis	8.5 a 9.0
OH de Tir	9.5 a 10.5
α-Amino	8.0 a 9.0
ε-Amino de Lis	9.8 a 10.4
Guanidinio de Arg	~12.0

La solubilidad de aminoácidos refleja su carácter iónico

Las cargas conferidas por los grupos funcionales disociables de aminoácidos aseguran que son solvatados con facilidad por —y, así, son solubles en— solventes polares como el agua y el etanol, pero son insolubles en solventes no polares, como benceno, hexano o éter.

Los aminoácidos no absorben luz visible y, así, son incoloros. Sin embargo, la tirosina, la fenilalanina y en especial el triptófano, absorben luz ultravioleta de longitud de onda alta (250 a 290 nm). Dado que absorbe luz ultravioleta con una eficiencia unas 10 veces mayor que la fenilalanina o la tirosina, el triptófano hace la principal contribución a la capacidad de casi todas las proteínas para absorber luz en la región de 280 nm.

LOS GRUPOS α-R DETERMINAN LAS PROPIEDADES DE AMINOÁCIDOS

Dado que la glicina, el aminoácido de menor tamaño, puede adaptarse en lugares inaccesibles a otros aminoácidos, a menudo se encuentra donde los péptidos muestran flexión aguda. Los grupos R hidrofóbicos de alanina, valina, leucina e isoleucina, y los grupos R aromáticos de fenilalanina, tirosina y triptófano, típicamente se encuentran de manera primaria en el interior de

proteínas citosólicas. Los grupos R cargados de aminoácidos básicos y acídicos estabilizan conformaciones proteínicas específicas por medio de interacciones iónicas o puentes salinos. Estas interacciones también funcionan en sistemas de "relevo de carga" durante catálisis enzimática y transporte de electrones en mitocondrias que están efectuando respiración. La histidina desempeña funciones singulares en la catálisis enzimática. La pK_a de su protón imidazol permite que funcione a pH neutral como un catalizador básico o ácido sin necesidad de algún cambio inducido por el ambiente. El grupo alcohol primario de la serina y el grupo tioalcohol primario (—SH) de la cisteína son excelentes nucleófilos y pueden funcionar como tales durante la catálisis enzimática. Sin embargo, el grupo alcohol secundario de la treonina, pese a ser un buen nucleófilo, no cumple con una función análoga en la catálisis. Los grupos —OH de serina, tirosina y treonina también participan en la regulación de la actividad de enzimas cuya actividad catalítica depende del estado de fosforilación de estos residuos.

LOS GRUPOS FUNCIONALES DICTAN LAS REACCIONES QUÍMICAS DE LOS AMINOÁCIDOS

Cada grupo funcional de un aminoácido muestra todas sus reacciones químicas características. Para grupos de ácido carboxílico, tales reacciones incluyen la formación de ésteres, amidas y anhídridos ácidos; en el caso de los grupos amino, comprende acilación, amidación y esterificación; en tanto que para grupos —OH y —SH, conlleva oxidación y esterificación. La reacción de mayor importancia de los aminoácidos es la formación de un enlace péptido (sombreado en la siguiente figura).

Alanil Cisteinil Valina

La secuencia de aminoácidos determina la estructura primaria

El número y el orden de todos los residuos aminoácidos en un polipéptido constituyen su estructura primaria. Los aminoácidos presentes en péptidos reciben el nombre de residuos aminoacilo y obtienen su denominación mediante remplazar los sufijos *-ato* o *-ina* de aminoácidos libres por *-il* (p. ej., alan*il*, aspart*il*, tiros*il*). La nomenclatura de los péptidos está en función de los derivados del residuo aminoacilo *carboxilo* terminal; por ejemplo, Lis-Leu-Tir-Gln se llama lis*il*-leuc*il*-tiros*il*-glutam*ina*. Así, la terminación *-ina* en la glutamina indica que su grupo carboxilo α *no* participa en la formación del enlace peptídico.

Las estructuras peptídicas son fáciles de dibujar

Los prefijos como *tri-* u *octa-* denotan péptidos con tres u ocho *residuos*, respectivamente. Por convención, los péptidos se escriben con el residuo que porta el grupo amino α libre a la izquierda. Para dibujar un péptido, se usa un zigzag para representar la cadena principal o esqueleto. Se añaden los principales átomos de la cadena, mismos que se presentan en el orden de repetición: nitrógeno α, carbono α, carbono carbonilo. Ahora se adiciona un átomo de hidrógeno a cada carbono α, y a cada nitrógeno péptido, y un oxígeno al carbono carbonilo. Por último, se añaden los grupos R apropiados (sombreados en la siguiente figura) a cada átomo de carbono α.

Las abreviaturas de tres letras enlazadas por líneas rectas representan una estructura primaria no ambigua. Las líneas se omiten para abreviaturas de una sola letra.

Glu - Ala - Lis - Gli - Tir - Ala

E A K G Y A

Algunos péptidos contienen aminoácidos poco comunes

En mamíferos, las hormonas peptídicas en forma típica sólo contienen los veinte aminoácidos α genéticamente codificados enlazados por enlaces peptídicos estándar. Sin embargo, otros péptidos pueden contener aminoácidos no proteínicos, derivados de los aminoácidos proteínicos, o aminoácidos ligados por un enlace peptídico atípico. Por ejemplo, el glutamato amino terminal del glutatión, un tripéptido que participa en el plegado de proteína y en el metabolismo de xenobióticos (cap. 53), está ligado a la cisteína mediante un enlace peptídico no α (**figura 3-3**). El glutamato amino terminal de la hormona liberadora de tirotropina (TRH) forma un ciclo hacia ácido piroglutámico, y el grupo carboxilo del residuo prolilo carboxilo terminal está amidado. Los aminoácidos no proteínicos D-fenilalanina y ornitina están presentes en los antibióticos peptídicos cíclicos tirocidina y gramicidina S, mientras que los opioides heptapeptídicos dermorfina y deltoforina en la piel de ranas arborícolas (plataneras) sudamericanas contienen D-tirosina y D-alanina.

FIGURA 3–3 Glutatión (γ-glutamil-cisteinil-glicina). Note el enlace peptídico no α que une Glu a Cis.

Los péptidos son polielectrólitos

El enlace peptídico está no cargado a cualquier pH de interés fisiológico; por ende, la formación de péptidos a partir de aminoácidos está acompañada de pérdida neta de una carga positiva y una negativa por cada enlace peptídico formado. Sin embargo, los péptidos están cargados a pH fisiológico debido a sus grupos carboxilo y amino terminales y, donde están presentes, sus grupos R acídicos o básicos. Al igual que para aminoácidos, la carga neta sobre un péptido depende del pH de su ambiente y de los valores de pK_a de sus grupos en disociación.

El enlace peptídico tiene carácter de doble enlace parcial

Aunque los péptidos se escriben como si un enlace único enlazara los átomos carboxilo α y nitrógeno α, este enlace de hecho muestra carácter de doble enlace parcial:

De este modo, no hay libertad de rotación alrededor del enlace que conecta el carbono carbonilo y el nitrógeno de un enlace peptídico. En consecuencia, los átomos de O, C, N y H de un enlace peptídico son coplanares. La semirrigidez impuesta del enlace peptídico tiene consecuencias importantes para la manera en la cual los péptidos y las proteínas se pliegan para generar órdenes de estructura superiores. En la **figura 3-4**, las flechas de color café (marrón) alrededor de los enlaces restantes del esqueleto polipeptídico indican rotación libre.

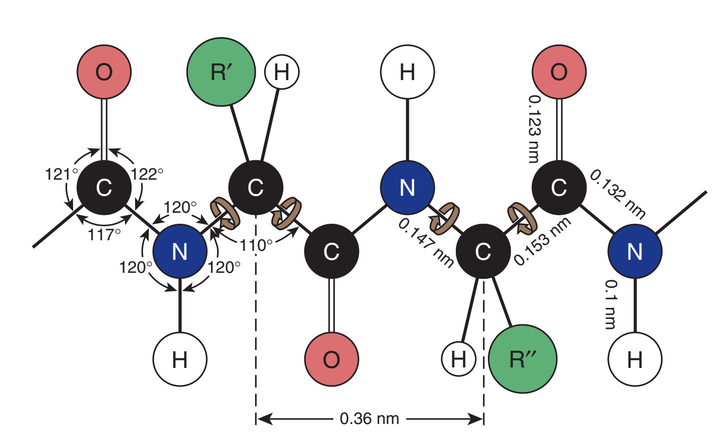


FIGURA 3–4 Dimensiones de una cadena polipeptídica extendida por completo. Los cuatro átomos del enlace peptídico son coplanares. Puede ocurrir rotación libre alrededor de los enlaces que conectan el carbono α con el nitrógeno α y con el carbono carbonilo α (flechas de color café). De este modo, la cadena polipeptídica extendida es una estructura semirrígida con dos terceras partes de los átomos del esqueleto sostenidas en una relación planar fija una con otra. La distancia entre átomos de carbono α adyacentes es de 0.36 nm (3.6 Å). También se muestran las distancias interatómicas y los ángulos de enlace, que no son equivalentes. (Redibujada y reproducida, con autorización, de Pauling L, Corey LP, Branson HR: The structure of proteins: Two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptide chain. Proc Natl Acad Sci USA 1951;37:205.)

Las fuerzas no covalentes restringen las conformaciones de péptidos

El plegado de un péptido probablemente ocurre de manera coincidente con su biosíntesis (cap. 37). La conformación activa desde el punto de vista fisiológico refleja las contribuciones colectivas de la secuencia de aminoácidos, el obstáculo estérico y las interacciones no covalentes (p. ej., formación de enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas) entre residuos. Las conformaciones frecuentes comprenden hélices α y hojas plegadas β (cap. 5).

ANÁLISIS DEL CONTENIDO DE AMINOÁCIDOS DE MATERIALES BIOLÓGICOS

Para determinar la identidad de cada aminoácido presente en una proteína, primero se trata con ácido clorhídrico caliente para hidrolizar los enlaces peptídicos. Hay varios métodos para separar, y para identificar, aminoácidos derivados de un hidrolizado de proteína o de orina u otros líquidos biológicos. Un método es hacer reaccionar los aminoácidos con 6-amino-*N*-hidroxisuccinimidil carbamato para formar derivados fluorescentes que pueden separarse mediante cromatografía líquida de alta presión (capítulo 4). En un método alternativo, que sólo requiere equipo mínimo, se emplea cromatografía de partición sobre un soporte sólido, típicamente una hoja de papel filtro (cromatografía en papel) o una capa delgada de celulosa en polvo o gel de sílice sobre un soporte inerte (cromatografía de capa delgada, o TLC). Los aminoácidos presentes son separados mediante una fase móvil que contiene una mezcla de componentes polares y no polares miscibles (p. ej., *n*-butanol, ácido fórmico y agua). A medida que la fase móvil asciende por la hoja, sus componentes polares se asocian con los grupos polares del soporte. Por ende, el solvente se hace progresivamente menos polar conforme migra hacia arriba de la hoja. En consecuencia, los aminoácidos se dividen entre una fase estacionaria polar y una fase móvil menos polar ("cromatografía de partición"). Los aminoácidos no polares (p. ej., Leu, Ile) migran más lejos puesto que pasan la mayor proporción de su tiempo en la fase móvil. Los aminoácidos polares (p. ej., Glu, Lis) viajan la menor distancia desde el origen puesto que pasan una proporción alta de su tiempo en la fase estacionaria que consiste en una capa de moléculas de solvente polares inmovilizadas mediante su asociación con el soporte de celulosa o de sílice. Después de eliminar el solvente mediante secado con aire, los aminoácidos se visualizan usando ninhidrina, que forma productos de color púrpura con los α-aminoácidos, pero un aducto de color amarillo con prolina e hidroxiprolina.

RESUMEN

- Tanto los D-aminoácidos como los no α-aminoácidos existen en la Naturaleza, pero sólo los L-α-aminoácidos están presentes en las proteínas.
- Todos los aminoácidos poseen al menos dos grupos funcionales débilmente acídicos, R—NH_3^+ y R—COOH. Muchos también

poseen grupos funcionales débilmente acídicos adicionales, —OH, —SH, guanidino o porciones imidazol.

- Los valores de pK_a de todos los grupos funcionales de un aminoácido dictan su carga neta a un pH dado. El pI es el pH al cual un aminoácido no porta carga neta y así no se mueve en un campo eléctrico de corriente directa.
- De las reacciones bioquímicas de aminoácidos, la más importante es la formación de enlaces peptídicos.
- Los grupos R de aminoácidos determinan sus funciones bioquímicas singulares. Con base en las propiedades de sus grupos R, los aminoácidos se clasifican como básicos, acídicos, aromáticos, alifáticos o que contienen azufre.
- Los péptidos reciben su nombre por el número de residuos aminoácidos presentes y como derivados del residuo carboxilo terminal. La estructura primaria de un péptido es su secuencia de aminoácidos, empezando a partir del residuo amino terminal.
- El carácter de doble enlace parcial del enlace que une el carbono carbonilo y el nitrógeno de un péptido hace coplanares a los cuatro átomos del enlace peptídico y restringe el número de conformaciones peptídicas posibles.

REFERENCIAS

Doolittle RF: Reconstructing history with amino acid sequences. Protein Sci 1992;1:191.

Gladyschev VN, Hatfield DL: Selenocysteine-containing proteins in mammals. J Biomed Sci 1999;6:151.

Kolodkin-Gal I: D-Amino acids trigger biofilm disassembly. Science 2010;328:627.

Kreil G: D-Amino acids in animal peptides. Annu Rev Biochem 1997;66:337.

Nokihara K, Gerhardt J: Development of an improved automated gas-chromatographic chiral analysis system: application to nonnatural amino acids and natural protein hydrolysates. Chirality 2001;13:431.

Papp LV: From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. Antioxidants Redox Signal 2007;9:775.

Sanger F: Sequences, sequences, and sequences. Annu Rev Biochem 1988;57:1.

Stadtman TC: Selenocysteine. Annu Rev Biochem 1996;65:83.

Wilson NA, Barbar E, Fuchs JA, et al: Aspartic acid 26 in reduced *Escherichia coli* thioredoxin has a pK_a greater than 9. Biochemistry 1995;34:8931.

CAPÍTULO 4

Proteínas: determinación de la estructura primaria

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir múltiples métodos cromatográficos comúnmente empleados para el aislamiento de proteínas a partir de materiales biológicos.
- Explicar cómo los científicos analizan la secuencia de una proteína o la estructura de la misma para extraer información acerca de su posible función fisiológica.
- Listar varias de las alteraciones postraduccionales por las que pasan las proteínas durante su lapso de vida, y la influencia de esas modificaciones sobre la función de una proteína y el destino de la misma.
- Describir la base química del método de Edman para determinar la estructura primaria.
- Dar tres razones por las cuales la espectrometría de masa (MS) ha suplantado en su mayor parte a los métodos químicos para la determinación de la estructura primaria de las proteínas, y la detección de modificaciones postraduccionales.
- Explicar por qué la MS permite detectar modificaciones postraduccionales que no se detectan mediante la secuenciación de Edman o secuenciación de DNA.
- Describir cómo la clonación de DNA y la biología molecular hicieron mucho más rápida y eficiente la determinación de las estructuras primarias de las proteínas.
- Explicar qué significa "el proteoma", y citar ejemplos de su importancia potencial final.
- Comentar las contribuciones de la genómica, los algoritmos de computadora y las bases de datos a la identificación de los marcos de lectura abierta (ORF) que codifican para una proteína dada.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las proteínas son macromoléculas complejas desde los puntos de vista físico y funcional, que desempeñan múltiples funciones de importancia crucial. Por ejemplo, una red de proteína interna, el citoesqueleto (cap. 49), mantiene la forma y la integridad física celulares. Filamentos de actina y miosina forman la maquinaria contráctil del músculo (cap. 49). La hemoglobina transporta oxígeno (cap. 6), mientras que los anticuerpos circulantes defienden contra invasores extraños (cap. 50). Las enzimas catalizan reacciones que generan energía, sintetizan biomoléculas y las degradan, replican genes y los transcriben, procesan mRNA (ácido ribonucleico mensajero), entre otras funciones (cap. 7). Los receptores permiten a las células detectar hormonas y otros indicios ambientales, así como mostrar respuesta a los mismos (caps. 41 y 42). Las proteínas están sujetas a cambios físicos y funcionales que reflejan el ciclo de vida de los organismos en los cuales residen. Una proteína típica nace en el momento de la traducción (cap. 37), madura a través de eventos de procesamiento postraduccional, como proteólisis selectiva (caps. 9 y 37), alterna entre estados de trabajo y de reposo por medio de la intervención de factores reguladores (cap. 9), envejece por oxidación, desamidación, etc. (cap. 52), y muere cuando se degrada hacia los aminoácidos que la componen (cap. 29). Un objetivo importante de la medicina molecular es la identificación de biomarcadores como proteínas y la modificación de proteínas cuya presencia, ausencia o deficiencia se relaciona con estados fisiológicos o enfermedades específicos (**figura 4-1**).

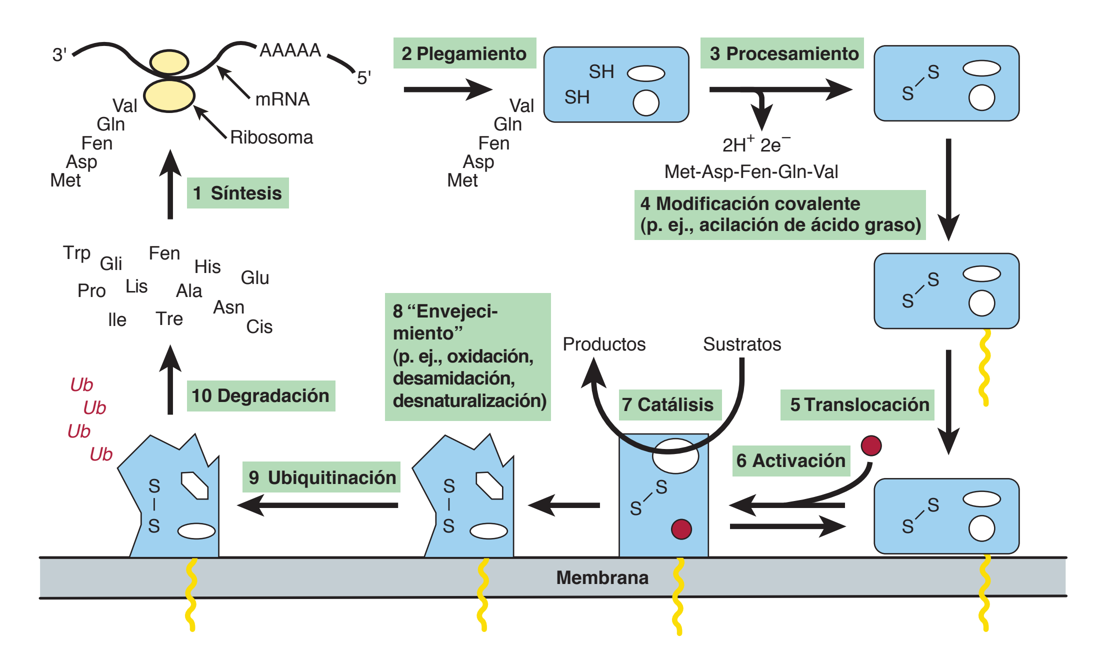


FIGURA 4–1 Diagrama del ciclo de vida de una proteína hipotética. 1) El ciclo de vida empieza con la síntesis en un ribosoma de una cadena polipeptídica, cuya estructura primaria está dictada por un mRNA. 2) Conforme procede la síntesis, el polipéptido empieza a plegarse hacia su conformación natural (representada en color azul). 3) El plegamiento puede acompañarse de eventos de procesamiento, como división proteolítica de una secuencia líder *N* terminal (Met-Asp-Fen-Gln-Val) o la formación de enlaces disulfuro (S—S). 4) Las modificaciones covalentes subsiguientes pueden, por ejemplo, fijar una molécula de ácido graso (representada en color amarillo) para 5) translocación de la proteína modificada hacia una membrana. 6) La unión de un efector alostérico (representado en color rojo) puede desencadenar la adopción de una conformación catalíticamente activa. 7) Con el tiempo, las proteínas quedan dañadas por ataque por sustancias químicas, desamidación o desnaturalización, y 8) pueden ser "marcadas" mediante la fijación covalente de varias moléculas de ubiquitina *(Ub).* 9) La proteína ubiquitinada después es degradada a los aminoácidos que la componen, que quedan disponibles para la síntesis de nuevas proteínas.

LAS PROTEÍNAS Y LOS PÉPTIDOS SE DEBEN PURIFICAR ANTES DE ANALIZARLOS

La proteína altamente purificada es esencial para el examen detallado de sus propiedades físicas y funcionales. Las células contienen miles de proteínas distintas, cada una en cantidades ampliamente variables. Así, el aislamiento de una proteína específica en cantidades suficientes para analizar sus propiedades plantea un formidable desafío que puede requerir la aplicación sucesiva de múltiples técnicas de purificación. La precipitación selectiva explota diferencias de la solubilidad relativa de proteínas individuales en función del pH (precipitación isoeléctrica), la polaridad (precipitación con etanol o con acetona), o la concentración de sal (separación de sustancias disueltas al añadir sulfato de amonio a la solución). Las técnicas cromatográficas separan una proteína de otra con base en la diferencia de su tamaño (cromatografía de exclusión de tamaño), la carga (cromatografía de intercambio iónico), hidrofobicidad (cromatografía de interacción hidrofóbica), o capacidad para unirse a un ligando específico (cromatografía de afinidad).

Cromatografía de columna

En la cromatografía de columna la matriz de fase estacionaria consta de cuentas pequeñas cargadas en un recipiente cilíndrico de vidrio, plástico o acero llamado una columna. Fritas permeables a líquido confinan las cuentas dentro de este espacio mientras que permiten que el líquido de fase móvil fluya o se filtre a través de la columna. Por medio de procedimientos químicos se pueden preparar derivados de las cuentas de fase estacionaria para cubrir su superficie con los grupos ácido, básico, hidrofóbico o tipo ligando requeridos para cromatografía de intercambio iónico, de interacción hidrofóbica, o de afinidad. A medida que el líquido de fase móvil sale de la columna, es recolectado de manera automática en una serie de porciones pequeñas llamadas fracciones. En la **figura 4-2** se describe la disposición básica de un sistema de cromatografía sencillo para mesa de trabajo.

Cromatografía líquida de alta presión (HPLC)

Para la cromatografía en columna de primera generación las matrices constaban de polímeros de oligosacárido entrelazados, largos, conformados hacia cuentas esféricas de aproximadamente una décima de milímetro de diámetro. Desafortunadamente, su tamaño relativamente grande perturbaba el flujo de fase móvil y limitaba el área de superficie disponible. La reducción del tamaño de las partículas ofreció el potencial de aumentar mucho la resolución. Sin embargo, la resistencia creada por la matriz más estrechamente empacada requirió el uso de presiones muy altas que aplastarían las cuentas de polisacárido blandas y esponjosas y materiales similares, por ejemplo, acrilamida. Finalmente, se crearon métodos para manufacturar partículas de

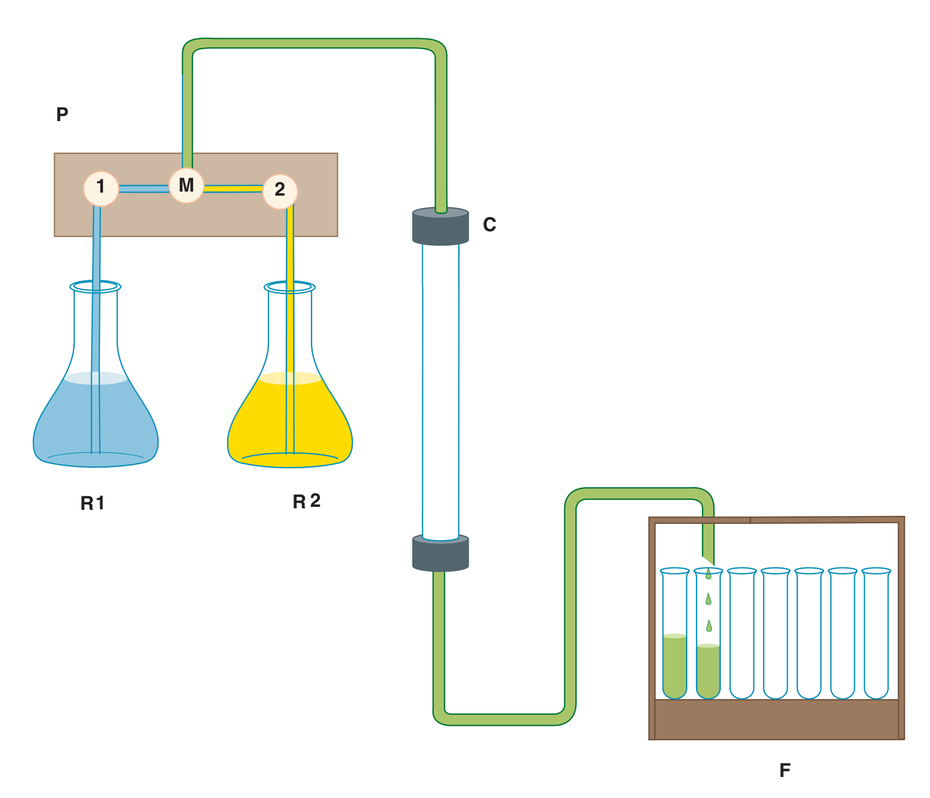


FIGURA 4–2 **Componentes de un aparato de cromatografía líquida típico.** R1 y R2: reservorios de líquido de fase móvil. P: sistema de bombeo programable que contiene dos bombas, 1 y 2, y una cámara de mezcla, M. El sistema puede ajustarse para que bombee líquido desde sólo un reservorio, para que cambie de reservorios en un punto predeterminado a fin de generar un gradiente de paso, o para que mezcle líquidos de los dos reservorios en proporciones que varían con el tiempo para crear un gradiente continuo. C: columna de vidrio, metal o plástico que contiene la fase estacionaria. F: colector de fracción para recolectar porciones, llamadas *fracciones,* de líquido de elución en tubos de ensayo separados.

silicón del tamaño y la forma necesarios para preparar derivados de su superficie con diversos grupos funcionales, y para empacarlas en columnas de acero inoxidable capaces de soportar presiones de varios miles de libras por pulgada (psi). Debido a su mayor poder de resolución, los sistemas de cromatografía líquida de alta presión han desplazado en su mayor parte las columnas de vidrio alguna vez familiares en el laboratorio de purificación de proteína.

Cromatografía de exclusión de tamaño

En la cromatografía de exclusión de tamaño —o filtración en gel— se separan las proteínas con base en su **radio de Stokes**, el radio de la esfera que ocupan a medida que entran en solución. El radio de Stokes es una función de la masa y la forma moleculares. Una proteína alargada que cae ocupa un mayor volumen que una proteína esférica de la misma masa. En la cromatografía de exclusión de tamaño se emplean cuentas porosas (**figura 4-3**). Los poros son análogos a irregularidades en una ribera de río. A medida que los objetos se mueven torrente abajo, los que entran en una irregularidad se retrasan hasta que regresan a la corriente principal. De modo similar, las proteínas con radios de Stokes demasiado grandes como para entrar en los poros (proteínas excluidas) permanecen en la fase móvil que está fluyendo y salen *antes* que las que pueden entrar en los poros (proteínas incluidas). Así, las proteínas surgen a partir de una columna de filtración en gel en orden descendente de sus radios de Stokes.

Cromatografía de intercambio iónico

En la cromatografía de intercambio iónico, las proteínas interactúan con la fase estacionaria mediante interacciones de carga-carga. Las proteínas con una carga positiva neta a un pH dado se adherirán estrechamente a cuentas con grupos funcionales que tienen carga negativa, como carboxilatos o sulfatos (intercambiadores catiónicos). De modo similar, las proteínas con una carga negativa neta se adhieren a cuentas que tienen grupos funcionales con carga positiva, típicamente aminas terciarias o cuaternarias (intercambiadores aniónicos). Las proteínas no adherentes fluyen a través de la matriz y se eliminan por medio de lavado. A continuación, las proteínas unidas son desplazadas de manera selectiva al aumentar gradualmente la fuerza iónica de la fase móvil, lo que debilita interacciones entre una carga y otra. Hay elución de proteínas en orden inverso de la fuerza de sus interacciones con la fase estacionaria.

Cromatografía de interacción hidrofóbica

Separa a proteínas con base en su tendencia a asociarse con una matriz de fase estacionaria cubierta con grupos hidrofóbicos (p. ej., fenil Sepharose, octil Sephadex). Las proteínas que tienen superficies hidrofóbicas expuestas se adhieren a la matriz por medio de interacciones hidrofóbicas que se aumentan mediante

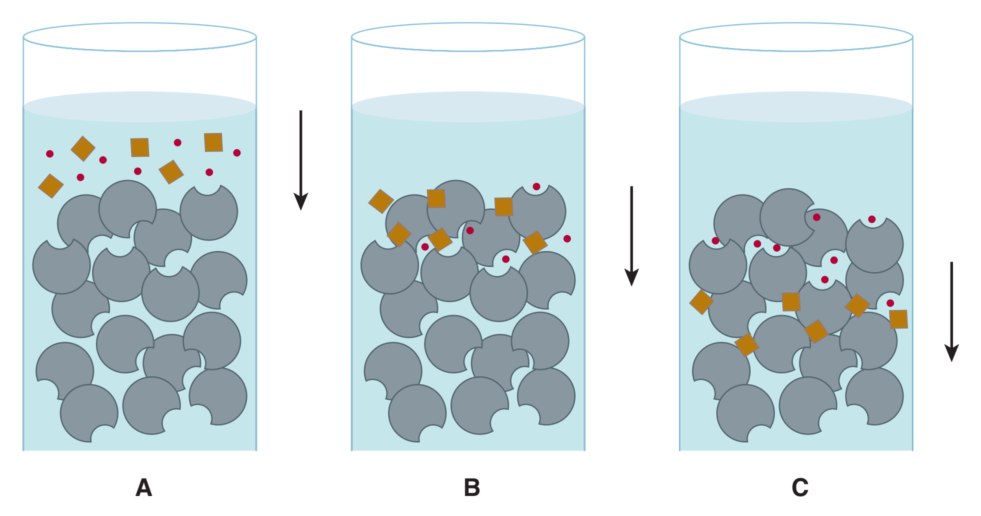


FIGURA 4–3 Cromatografía de exclusión de tamaño. A: Una mezcla de moléculas grandes (en color café) y moléculas pequeñas (rojo) se aplica en la parte superior de una columna de filtración de gel. B: En el momento de entrar a la columna, las moléculas pequeñas entran a poros en la matriz de fase estacionaria (gris) a partir de la cual se excluyen las moléculas grandes. C: Conforme la fase móvil (azul) fluye por la columna, las moléculas grandes excluidas fluyen dentro de la misma, mientras que las moléculas pequeñas, que están protegidas temporalmente del flujo cuando están dentro de los poros, se rezagan cada vez más.

una fase móvil de fuerza iónica alta. Las proteínas no adherentes primero se eliminan mediante lavado. A continuación se disminuye la polaridad de la fase móvil al reducir de manera gradual la concentración de sal. Si la interacción entre proteína y fase estacionaria es en particular fuerte, puede añadirse etanol o glicerol a la fase móvil para disminuir su polaridad y debilitar más las interacciones hidrofóbicas.

Cromatografía de afinidad

La cromatografía de afinidad explota la alta selectividad de casi todas las proteínas para sus ligandos. Las enzimas pueden purificarse mediante cromatografía de afinidad usando sustratos, productos, coenzimas o inhibidores, inmovilizados. En teoría, sólo las proteínas que interactúan con el ligando inmovilizado se adhieren. A continuación hay elución de proteínas unidas sea mediante competencia con ligando soluble libre o, de manera menos selectiva, al alterar interacciones entre proteína y ligando al usar urea, clorhidrato de guanidina, pH levemente ácido, o concentraciones altas de sal. Las matrices de fase estacionaria disponibles en el comercio contienen ligandos como análogos de NAD^+ o ATP. La purificación de proteínas expresadas de manera recombinante suele facilitarse al modificar el gen clonado para añadir un nuevo dominio de fusión designado para interactuar con un ligando unido a matriz específico (cap. 7).

La pureza de las proteínas se evalúa mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE)

El método más ampliamente usado para determinar la pureza de una proteína es la SDS-PAGE, electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) en presencia del detergente aniónico dodecil sulfato de sodio (SDS). La electroforesis separa biomoléculas cargadas con base en los índices a los cuales migran en un campo eléctrico aplicado; en cuanto a la SDS-PAGE, la acrilamida se polimeriza y se entrecruza para formar una matriz porosa. El SDS se une a proteínas a una proporción de una molécula de SDS por cada dos enlaces peptídicos, lo que causa que el polipéptido se desdoble o se desnaturalice. Cuando es utilizada en forma conjunta con 2-mercaptoetanol o ditiotreitol para reducir enlaces disulfuro y romperlos (**figura 4-4**), la SDS-PAGE separa los polipéptidos componentes de proteínas multiméricas. El gran número de moléculas de SDS aniónicas, cada una de las cuales porta una carga de –1, abruma las contribuciones de carga de los

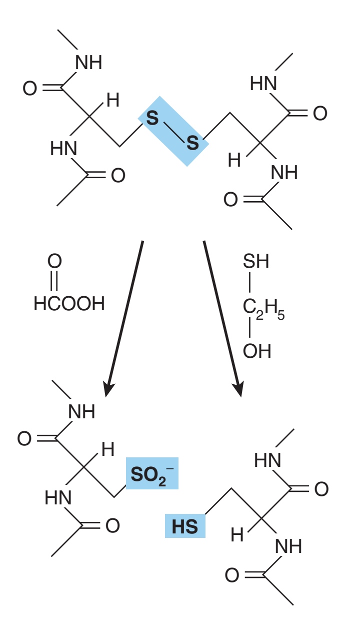


FIGURA 4–4 La división oxidativa de cadenas polipeptídicas adyacentes unidas por medio de enlaces disulfuro (resaltados en azul) al efectuar división en ácido (*izquierda*) o reductiva mediante β-mercaptoetanol (*derecha*) forma dos péptidos que contienen residuos ácido cisteico o residuos cisteinilo, respectivamente.

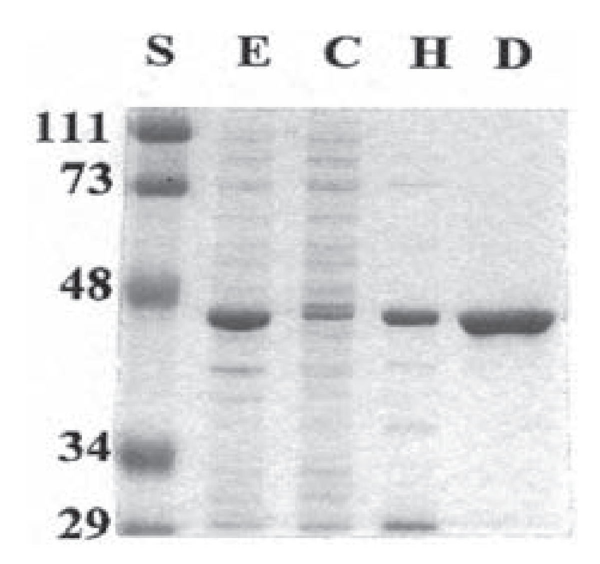


FIGURA 4–5 Uso de SDS-PAGE para observar la purificación sucesiva de una proteína recombinante. El gel se coloreó con azul de Coomassie. Se muestran estándares de proteína (carril S) del M_r indicado, en kDa, extracto celular bruto (E), citosol (C), líquido sobrenadante a alta velocidad (H [por *high-speed*]), y la fracción de DEAE-sefarosa (D). La proteína recombinante tiene una masa de alrededor de 45 kDa.

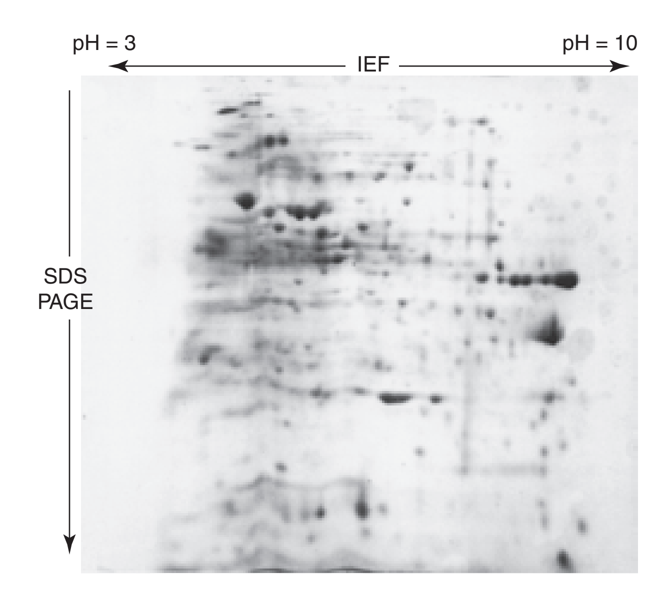


FIGURA 4–6 IEF-SDS-PAGE bidimensionales. El gel se tiñó con azul de Coomassie. Un extracto bacteriano bruto fue sometido primero a enfoque isoeléctrico (IEF) en un gradiente de pH de 3 a 10. A continuación el gel con IEF fue colocado en forma horizontal en la parte superior de un gel de SDS, y después las proteínas se resolvieron más mediante SDS-PAGE. Nótese la resolución muy mejorada de distintos polipéptidos en comparación con gel de SDS-PAGE ordinario (fig. 4-5).

grupos funcionales aminoácidos endógenos a los polipéptidos. Dado que la proporción entre carga y masa de cada complejo de SDS-polipéptido es más o menos igual, la resistencia física que cada péptido encuentra a medida que se mueve por la matriz de acrilamida determina el índice de migración. Dado que los complejos grandes encuentran mayor resistencia, los polipéptidos se separan con base en su masa molecular relativa (M_r, también conocida como peso molecular). Es factible visualizar polipéptidos individuales atrapados en el gel de acrilamida después de removerlos del campo eléctrico, tiñéndolos con colorantes como azul de Coomassie (**figura 4-5**).

Enfoque isoeléctrico (IEF)

Se usan amortiguadores iónicos llamados anfolitos y un campo eléctrico aplicado para generar un gradiente de pH dentro de una matriz de poliacrilamida. Las proteínas aplicadas migran hasta que llegan a la región de la matriz donde el pH coincide con su punto isoeléctrico (pI), el pH al cual la carga neta de una molécula es cero. El IEF se usa de manera conjunta con SDS-PAGE para la electroforesis bidimensional, que separa polipéptidos con base en el pI en una dimensión y con base en la M_r en la segunda (**figura 4-6**). La electroforesis bidimensional resulta idónea para separar los componentes de mezclas de proteínas complejas.

SANGER FUE EL PRIMERO EN DETERMINAR LA SECUENCIA DE UN POLIPÉPTIDO

La insulina madura consta de la cadena A de 21 residuos y la cadena B de 30 residuos unidos mediante enlaces disulfuro. Frederick Sanger redujo los enlaces disulfuro (figura 4-4), separó las cadenas A y B, y dividió cada cadena hacia péptidos de menor tamaño usando tripsina, quimotripsina y pepsina. Los péptidos resultantes después fueron aislados y tratados con ácido para hidrolizar una porción de los enlaces peptídicos y generar péptidos con apenas dos o tres aminoácidos. Cada péptido se hizo reaccionar con 1-fluoro-2,4-dinitrobenceno (reactivo de Sanger), que deriva los grupos α-amino expuestos de los residuos amino terminal. Después fue determinado el contenido de aminoácidos de cada péptido e identificado el aminoácido amino terminal. El grupo α-amino de la lisina también reacciona con el reactivo de Sanger, pero dado que una lisina amino terminal reacciona con 2 mol de dicho reactivo, es fácil distinguirla de una lisina en el interior de un péptido. Al trabajar desde dipéptidos y tripéptidos en adelante por fragmentos de tamaño progresivamente mayor, Sanger logró reconstruir la secuencia completa de la insulina, logro por el cual recibió un premio Nobel en 1958.

LA REACCIÓN DE EDMAN PERMITE SECUENCIAR PÉPTIDOS Y PROTEÍNAS

Pehr Edman introdujo el fenilisotiocianato (reactivo de Edman) para marcar de manera selectiva el residuo amino terminal de un péptido. En contraste con el reactivo de Sanger, el derivado feniltiohidantoína (PTH) puede eliminarse en condiciones leves para generar un nuevo residuo amino terminal (**figura 4-7**). Por consiguiente, pueden usarse rondas sucesivas de obtención de derivados con reactivo de Edman para secuenciar muchos residuos de una muestra única de péptido. Aun así, la determinación de la secuencia completa de una proteína mediante métodos

Fenilisotiocianato (reactivo de Edman) y un péptido

Un ácido feniltiohidantoico

H^+, nitrometano; H_2O

Una feniltiohidantoína y un péptido un residuo más corto

FIGURA 4–7 La reacción de Edman. El fenilisotiocianato produce derivados del residuo amino terminal de un péptido como un ácido feniltiohidantoico. El tratamiento con ácido en un solvente no hidroxílico libera una feniltiohidantoína, que posteriormente es identificada por su movilidad cromatográfica, y un péptido un residuo más corto. A continuación se repite el proceso.

químicos persiste como un proceso que consume tiempo y es laborioso.

Las propiedades químicas heterogéneas de los aminoácidos significaron que cada paso en el procedimiento representó un término medio entre la eficiencia para cualquier aminoácido o grupo de aminoácidos particular, y la flexibilidad necesaria para adaptarse a los 20. En consecuencia, cada paso en el proceso opera a eficiencia de menos de 100%, lo cual lleva a la acumulación de fragmentos polipeptídicos con *N* terminales variables. Finalmente, se hace imposible distinguir entre el aminoácido PTH correcto para esa posición en el péptido, de los contaminantes. Como resultado, la longitud de lectura para secuenciación de Edman varía desde 5 hasta 30 residuos de aminoácidos, dependiendo de la cantidad del péptido y la pureza del mismo.

Para determinar la secuencia completa de un polipéptido de varios cientos de residuos de longitud, una proteína primero debe dividirse en péptidos de menor tamaño, usando una proteasa o un reactivo como bromuro de cianógeno. Después de purificación mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC) de fase reversa, estos péptidos son analizados mediante secuenciación de Edman. Para montar estas secuencias peptídicas cortas a fin de resolver la secuencia completa del polipéptido intacto, es necesario analizar péptidos cuya secuencia se superpone. Esto se logra al generar múltiples juegos de péptidos usando más de un método de división. Las grandes cantidades de proteína purificada que se requieren para probar múltiples condiciones de fragmentación de proteína y de purificación de péptido constituyen la segunda desventaja importante de las técnicas químicas directas de secuenciación de proteína.

LA BIOLOGÍA MOLECULAR REVOLUCIONÓ LA DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA PRIMARIA

Las reacciones en las que se obtienen derivados de aminoácidos PTH, y se dividen estos últimos desde el extremo amino terminal de un péptido, de manera secuencial, típicamente se realizan en un secuenciador automatizado. En contraste, la secuenciación de DNA es tanto mucho más rápida como más económica. Las técnicas recombinantes permiten a los investigadores manufacturar un aporte casi infinito de DNA usando la muestra original como plantilla (cap. 39). Los métodos de secuenciamiento de DNA, cuyas propiedades químicas también fueron desarrolladas por Sanger, permiten de manera sistemática determinar las secuencias de polidesoxirribonucleótidos de algunos cientos de residuos de longitud en un análisis único, mientras que los secuenciadores automatizados pueden “leer” secuencias de varios miles de nucleótidos de longitud. El conocimiento del código genético permite determinar la secuencia del polipéptido codificado simplemente al traducir la secuencia de oligonucleótidos de su gen. Por el contrario, los primeros biólogos moleculares diseñaron sondas de oligonucleótido complementarias para identificar la clona de DNA que contiene el gen de interés al revertir este proceso y usar como plantilla un segmento de secuencia de aminoácidos determinada químicamente. De este modo, el advenimiento de la clonación de DNA introdujo el uso difundido de un método híbrido en el cual se empleó la química de Edman para secuenciar una porción pequeña de la proteína, y después explotar esta información para determinar la secuencia restante por medio de clonación de DNA y secuenciación del mismo.

LA GENÓMICA PERMITE IDENTIFICAR PROTEÍNAS A PARTIR DE CANTIDADES PEQUEÑAS DE DATOS DE SECUENCIA

En la actualidad el número de organismos para los cuales se ha identificado la secuencia de DNA completa de su genoma y puesto a disposición de la comunidad científica asciende a cientos (cap. 10). Estas secuencias abarcan casi todos los “organismos modelo” comúnmente empleados en laboratorios de investigación biomédica: *Homo sapiens,* ratón, rata, *Escherichia coli, Drosophila melanogaster, Caenorhabditis elegans,* levadura, etc., así como muchos organismos patógenos. Mientras tanto, en

todo el mundo, disposiciones de secuenciadores de DNA automatizados siguen generando datos sobre la secuencia del genoma con rapidez y economía aun mayores. Así, para la mayoría de los científicos investigadores la secuencia de la o las proteínas con las cuales están trabajando ya se ha determinado, y se podrá acceder a ella en una base de datos como GenBank (cap. 10). Lo único que el científico necesita es adquirir suficiente información sobre la secuencia de aminoácidos a partir de la proteína; a veces bastan cinco o seis residuos consecutivos para hacer una identificación inequívoca. Si bien la información sobre la secuencia de aminoácidos requerida puede obtenerse usando la técnica de Edman, en la actualidad la espectrometría de masa (MS) ha surgido como el mejor método para la identificación de proteína.

LA ESPECTROMETRÍA DE MASA PERMITE DETECTAR MODIFICACIONES COVALENTES

La sensibilidad, rapidez y versatilidad superiores de la MS han remplazado a la técnica de Edman como el principal método para determinar las secuencias de péptidos y proteínas. La MS es significativamente más sensible y tolerante de variaciones de la calidad de la muestra. Más aún, puesto que la masa y la carga son propiedades comunes de una amplia gama de biomoléculas, la MS puede usarse para analizar metabolitos, carbohidratos y modificaciones postraduccionales, como fosforilación o hidroxilación que añaden incrementos de masa fácilmente identificados a una proteína (**cuadro 4-1**). Estas modificaciones son difíciles de detectar usando la técnica de Edman y son indetectables en la secuencia de aminoácidos derivada de DNA.

LOS ESPECTRÓMETROS DE MASA VIENEN EN VARIAS CONFIGURACIONES

En un espectrómetro de masa sencillo, de cuadrupolo único, se coloca una muestra bajo vacío, y se permite que se vaporice en presencia de un donador de protón para impartir una carga positiva. A continuación, un campo eléctrico propulsa los cationes hacia un tubo de vuelo curvo donde encuentran un campo magnético, que los desvía a un ángulo recto respecto a su dirección de vuelo original (**figura 4-8**). La corriente que da energía al electroimán se aumenta de manera gradual hasta que la vía de cada ion se desvía lo suficiente como para que golpee un detector montado en el extremo del tubo de vuelo. Para iones de carga neta idéntica, la fuerza requerida para desviar su trayectoria al mismo grado es proporcional a su masa.

El tubo de vuelo para un espectrómetro de masa de tiempo de vuelo (TOF) es lineal. Después de la vaporización de la muestra en presencia de un donador de protón, se aplica brevemente un campo eléctrico para acelerar los iones hacia el detector en el extremo del tubo de vuelo. Para moléculas de carga idéntica, la velocidad a la cual son aceleradas —y, por ende, el tiempo requerido para que lleguen al detector— es inversamente proporcional a su masa.

Los espectrómetros de masa de cuadrupolo por lo general se usan para determinar las masas de moléculas de 4 000 Da o menos, mientras que los espectrómetros de masa de tiempo de vuelo se usan para determinar las masas grandes de proteínas complejas. Diversas combinaciones de cuadrupolos múltiples, o el reflejo de iones de regreso por el tubo de vuelo lineal de un espectrómetro de masa de TOF, se usan para crear instrumentos más sofisticados.

CUADRO 4–1 Incrementos de masas originados por modificaciones postraduccionales comunes

Modificación	Incremento de masa (Da)
Fosforilación	80
Hidroxilación	16
Metilación	14
Acetilación	42
Miristilación	210
Palmitoilación	238
Glucosilación	162

Los péptidos pueden volatilizarse para análisis mediante ionización de electroespray o desorción láser asistida por matriz

El análisis de péptidos y proteínas mediante espectrometría de masa inicialmente estuvo obstaculizado por dificultades para volatilizar moléculas orgánicas grandes. Si bien las moléculas orgánicas pequeñas podían vaporizarse fácilmente mediante calentamiento en un vacío (**figura 4-9**), las proteínas, los oligonucleótidos, etc., quedaban destruidos en estas condiciones. Sólo cuando se idearon técnicas fiables para dispersar péptidos, proteínas y otras biomoléculas grandes hacia la fase de vapor, fue posible aplicar la MS para su análisis estructural y determinación de secuencia. La dispersión hacia la fase de vapor se logra mediante **ionización de electroespray** y **desorción y ionización láser asistida por matriz**, también conocida como **MALDI**. En la ionización de electroespray, las moléculas que se van a analizar se disuelven en un solvente volátil y se introducen en la cámara de muestra en un chorro pequeño a través de un capilar (figura 4-9). A medida que la gotita de líquido surge hacia la cámara de muestra, el solvente se dispersa con rapidez y deja la macromolécula suspendida en la fase gaseosa. La sonda cargada sirve para ionizar la muestra. A menudo se utiliza la ionización de electroespray para analizar péptidos y proteínas conforme muestran elusión desde una HPLC u otra columna de cromatografía ya disuelta en un solvente volátil. En la MALDI, la muestra se mezcla con una matriz líquida que contiene un colorante que absorbe luz, y una fuente de protones. En la cámara de muestra, la mezcla es excitada usando un láser, lo que hace que la matriz circundante se disperse hacia la fase de vapor con rapidez tal que evite el calentamiento de péptidos o proteínas embebidos (figura 4-9).

Los péptidos dentro del espectrómetro de masa se pueden fragmentar hacia unidades de menor tamaño mediante choques

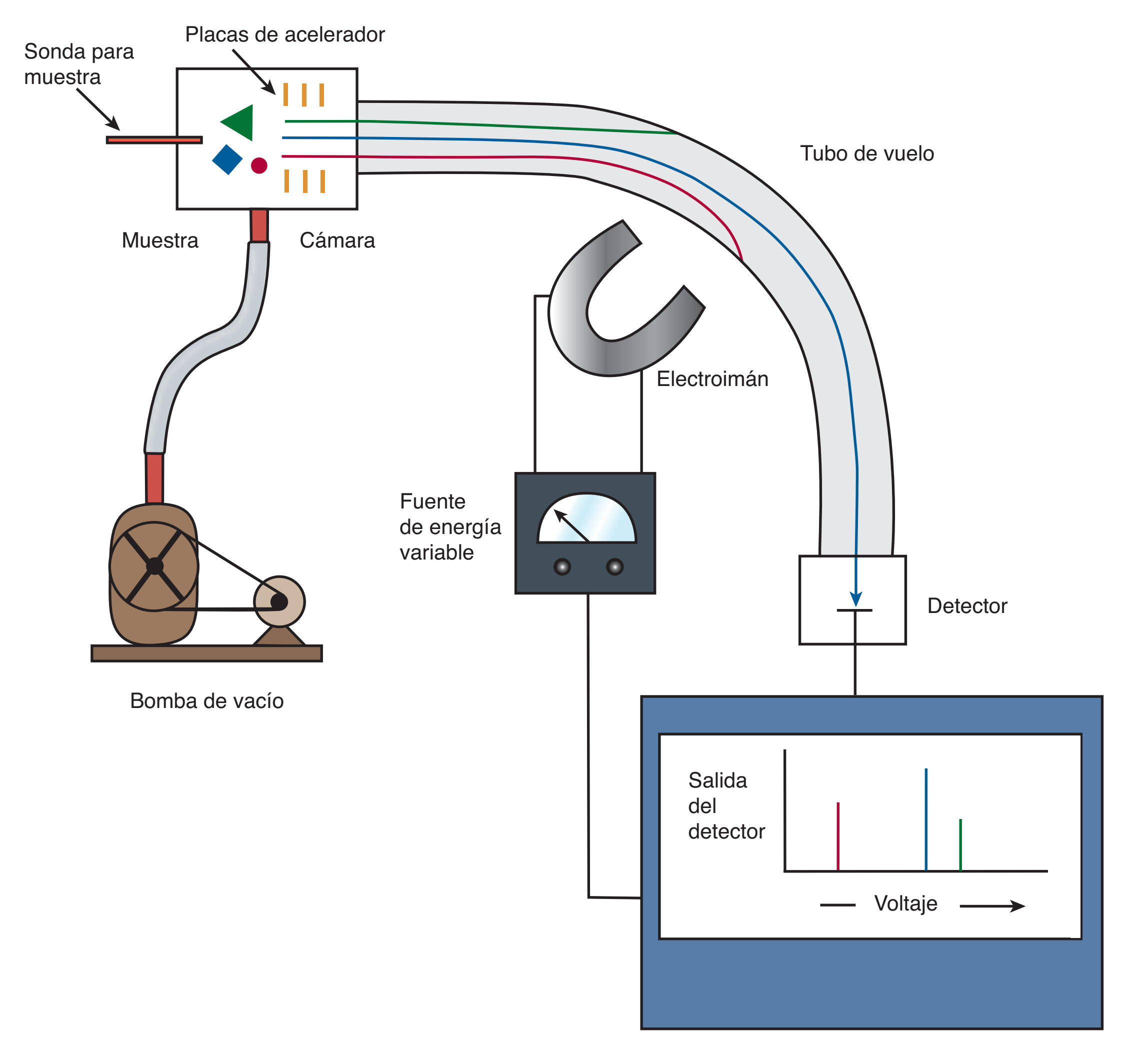


FIGURA 4–8 Componentes básicos de un espectrómetro de masa sencillo. Una mezcla de moléculas, representada por un círculo rojo, un triángulo verde y un rombo azul, es vaporizada en un estado ionizado en la cámara de muestra. A continuación, estas moléculas son aceleradas por el tubo de vuelo mediante un potencial eléctrico aplicado a la rejilla aceleradora (amarillo). Un electroimán de fuerza de campo ajustable aplica un campo magnético que desvía el vuelo de los iones individuales hasta que golpean el detector. Mientras mayor es la masa del ion, más alto es el campo magnético requerido para enfocarlo sobre el detector.

con átomos de helio o argón neutros (disociación inducida por colisión), y es posible determinar las masas de los fragmentos individuales. Puesto que los enlaces peptídicos son mucho más lábiles que los enlaces carbono-carbono, los fragmentos más abundantes diferirán uno de otro por unidades equivalentes a uno o dos aminoácidos. Dado que —con las excepciones de 1) leucina e isoleucina, y 2) glutamina y lisina— la masa molecular de cada aminoácido es singular, la secuencia del péptido puede reconstruirse a partir de las masas de sus fragmentos.

Espectrometría de masas en tándem

Aquí se emplea el equivalente de dos espectrómetros de masas enlazados en serie, y ahora permite analizar mezclas de péptidos complejas, sin purificación previa. Por esta razón, tales instrumentos en tándem a menudo se refieren como **MS-MS**. El primer espectrómetro separa péptidos individuales con base en sus diferencias de masa. Al ajustar la fuerza del campo del primer imán, un péptido único puede dirigirse hacia el segundo espectrómetro de masas, donde se generan fragmentos y se determinan sus masas. De manera alternativa, pueden mantenerse en una **trampa iónica** colocada entre los dos cuadrupolos, y pasarse de manera selectiva a los segundos cuadrupolos en lugar de perderse cuando los primeros cuadrupolos son ajustados para que seleccionen iones de una masa diferente.

La espectrometría de masas en tándem permite detectar anormalidades metabólicas

La espectrometría de masas en tándem puede usarse para efectuar pruebas en muestras de sangre provenientes de recién nacidos para detectar la presencia y las concentraciones de aminoácidos, ácidos grasos y otros metabolitos. Las anormalidades de las concentraciones de metabolitos pueden servir como indicadores diagnósticos para diversos trastornos genéticos, como fenilcetonuria, encefalopatía con acidemia etilmalónica y acidemia glutárica tipo 1.

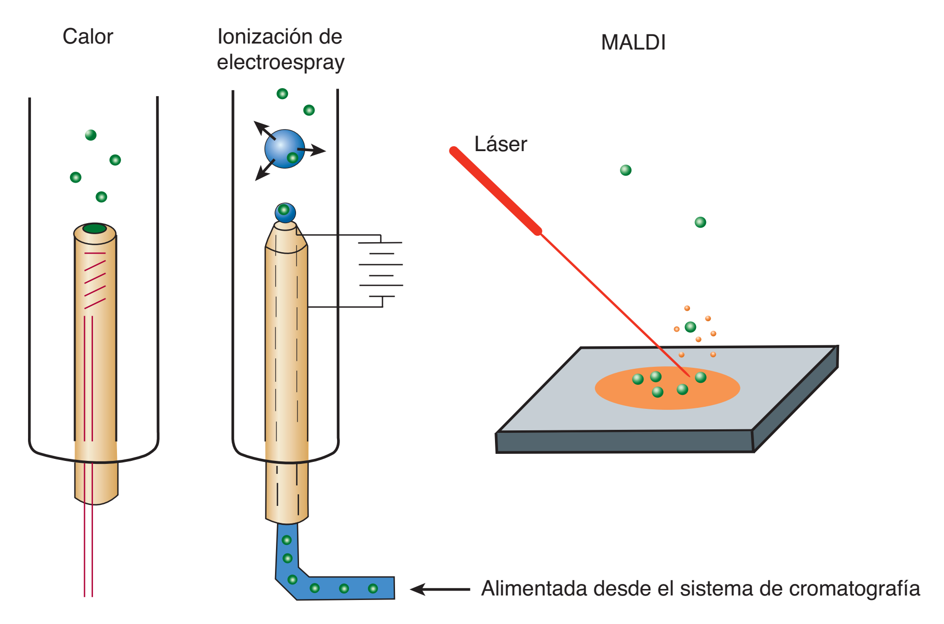


FIGURA 4–9 **Tres métodos comunes para vaporizar moléculas en la cámara de muestra de un espectrómetro de masa.**

PROTEÓMICA Y EL PROTEOMA

El objetivo de la proteómica es identificar la totalidad de proteínas elaboradas por una célula en diversas condiciones

Si bien se conoce la secuencia del genoma humano, el cuadro proporcionado por la genómica sola es tanto estático como incompleto. La proteómica se dirige a identificar la totalidad de proteínas elaboradas por una célula en condiciones diversas. A medida que los genes se activan y desactivan, se sintetizan proteínas en tipos de células particulares en momentos específicos del crecimiento o la diferenciación, así como en respuesta a estímulos externos. Las células musculares expresan proteínas no expresadas por células neurales, y el tipo de subunidades presente en el tetrámero de hemoglobina pasa por cambios antes y después del parto. Muchas proteínas pasan por modificaciones postraduccionales durante la maduración hacia formas competentes desde el punto de vista funcional, o como un medio de regular sus propiedades. Por ende, el conocimiento del genoma humano sólo representa el inicio de la tarea de describir organismos vivos en detalle molecular, así como entender la dinámica de procesos como crecimiento, envejecimiento y enfermedad. Dado que el cuerpo humano contiene miles de tipos de células, cada una de las cuales contiene miles de proteínas, el **proteoma** —el conjunto de todas las proteínas expresadas por una célula individual en un momento particular— representa un blanco en movimiento de formidables dimensiones.

La electroforesis bidimensional y las micromatrices multigénicas se usan para estudiar la expresión de proteína

Un objetivo de la proteómica es la identificación de proteínas cuyas magnitudes de expresión se correlacionan con eventos importantes desde el punto de vista médico. Se cree que las proteínas cuya aparición o desaparición se relaciona con un estado fisiológico específico o con una enfermedad determinada se relacionan, directa o indirectamente, con las causas y los mecanismos primarios. La determinación de los proteomas característicos de cada tipo de célula requiere eficiencia máxima en el aislamiento y la identificación de proteínas individuales. En el método contemporáneo se utiliza automatización robótica para acelerar la preparación de muestras, y geles bidimensionales grandes para resolver proteínas celulares. A continuación se extraen polipéptidos individuales y se analizan mediante secuenciación de Edman o espectroscopia de masas. Si bien sólo es posible resolver alrededor de 1 000 proteínas en un gel único, la electroforesis bidimensional plantea una importante ventaja por cuanto examina las proteínas en sí.

En un método alternativo, llamado *Multidimensional Protein Identification Technology* (MudPIT), se emplean rondas sucesivas de cromatografía para resolver los péptidos producidos a partir de la digestión de una muestra biológica compleja hacia varias fracciones más simples que se pueden analizar por separado mediante MS. Las **micromatrices multigénicas, a veces llamadas microchips de DNA**, en las cuales se detecta la expresión de los mRNA que codifican para proteínas, ofrecen un método complementario para la proteómica. Si bien los cambios de la expresión del mRNA que codifica para una proteína no necesariamente reflejan cambios comparables de la concentración de la proteína correspondiente, las micromatrices multigénicas son más sensibles que los geles bidimensionales, en particular respecto a proteínas poco abundantes y, así, permiten examinar un rango más amplio de productos de gen.

La bioinformática ayuda a la identificación de funciones de las proteínas

Se desconocen las funciones de una gran proporción de las proteínas codificadas por el genoma humano. Aún está en sus inicios la creación de micromatrices proteínicas para practicar pruebas

de manera directa respecto a las funciones potenciales de proteínas a una escala masiva. Sin embargo, avances recientes en bioinformática permiten a los investigadores comparar secuencias de aminoácidos para descubrir indicios respecto a propiedades potenciales, funciones fisiológicas y mecanismos de acción de proteínas. Los algoritmos explotan la tendencia de la naturaleza a emplear variaciones de un tema estructural para efectuar funciones similares en varias proteínas (p. ej., el pliegue de unión del nucleótido de Rossmann para unir NAD(P)H, secuencias de blanco nuclear, y manos EF para unir Ca^{2+}). Estos dominios por lo general se detectan en la estructura primaria mediante conservación de aminoácidos particulares en posiciones clave. De este modo, la información acerca de las propiedades y la función fisiológica de una proteína recién descubierta puede inferirse al comparar su estructura primaria con la de proteínas conocidas.

RESUMEN

- Los polímeros de aminoácidos largos o polipéptidos constituyen la unidad estructural básica de las proteínas, y la estructura de una proteína proporciona información acerca de cómo desempeña sus funciones.
- Las proteínas pasan por alteraciones postraduccionales durante su lapso de vida, que influyen sobre su función y determinan su destino.
- El método de Edman ha quedado remplazado en su mayor parte por la espectrometría de masa, recurso sensible y versátil para determinar estructura primaria, para identificar modificaciones postraduccionales y detectar anormalidades metabólicas.
- La clonación del DNA y la biología molecular, junto con la química de proteínas, proporcionan un método híbrido que aumenta mucho la rapidez y la eficiencia para determinar las estructuras primarias de proteínas.
- La genómica —el análisis de toda la secuencia de oligonucleótidos del material genético completo de un organismo— ha proporcionado más mejoras.
- Los algoritmos por computadora facilitan la identificación de los ORF que codifican para una proteína dada, al usar secuencias parciales y establecimiento de perfil de masa peptídica para investigar bases de datos de secuencia.
- Los científicos ahora están tratando de determinar la secuencia primaria y el papel funcional de cada proteína expresada en una célula viva, conocida como su proteoma.
- Un objetivo importante es la identificación de proteínas y sus modificaciones postraduccionales cuya aparición o desaparición se correlaciona con fenómenos fisiológicos, envejecimiento o enfermedades específicas.

REFERENCIAS

Arnaud CH: Mass spec tackles proteins. Chem Eng News 2006;84:17.

Austin CP: The impact of the completed human genome sequence on the development of novel therapeutics for human disease. Annu Rev Med 2004;55:1.

Deutscher MP (editor): *Guide to Protein Purification.* Methods Enzymol, vol. 182, Academic Press, 1990 (Volumen completo).

Gwynne P, Heebner G: Mass spectrometry in drug discovery and development: from physics to pharma. Science 2006;313:1315.

Kislinger T, Gramolini AO, MacLennan DH, et al: Multidimensional protein identification technology (MudPIT): technical overview of a profiling method optimized for the comprehensive proteomic investigation of normal and diseased heart tissue. J Am Soc Mass Spectrom 2005;16:1207.

Kolialexi A, Anagnostopoulos AK, Mavrou A, et al: Application of proteomics for diagnosis of fetal aneuploidies and pregnancy complications. J Proteomics 2009;72:731.

Levy PA: An overview of newborn screening. J Dev Behav Pediatr 2010;31:622.

Schena M, Shalon D, Davis RW, et al: Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. Science 1995;270:467.

Scopes RK: *Protein Purification. Principles and Practice*, 3rd ed. Springer, 1994.

Semsarian C, Seidman CE: Molecular medicine in the 21st century. Intern Med J 2001;31:53.

Sharon M, Robinson CV: The role of mass spectrometry in structure elucidation of dynamic protein complexes. Annu Rev Biochem 2007;76:167.

Shendure J, Ji H: Next-generation DNA sequencing. Nature Biotechnol 2008; 26:1135.

Sikaroodi M, Galachiantz Y, Baranova Al: Tumor markers: the potential of “omics” approach. Curr Mol Med 2010;10:249.

Woodage T, Broder S: The human genome and comparative genomics: understanding human evolution, biology, and medicine. J Gastroenterol 2003;15:68.

CAPÍTULO 5

Proteínas: órdenes de estructura superiores

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Indicar las ventajas y desventajas de varios métodos para clasificar proteínas.
- Explicar las estructuras primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria de proteínas, e ilustrarlas.
- Identificar los principales tipos reconocidos de estructura secundaria, y explicar la finalidad de las estructuras supersecundarias.
- Describir la clase y las potencias relativas de las fuerzas que estabilizan cada orden de estructura de proteína.
- Describir la información resumida por medio de un gráfico de Ramachandran.
- Indicar el estado actual del conocimiento respecto al proceso por pasos mediante el cual se cree que las proteínas alcanzan su conformación natural.
- Identificar el papel fisiológico en la maduración de proteína de los chaperones, la proteína disulfuro isomerasa, y la peptidilprolina *cis-trans*-isomerasa.
- Describir las principales técnicas biofísicas que se usan para estudiar las estructuras terciaria y cuaternaria de proteínas.
- Explicar cómo los trastornos genéticos y nutricionales de la maduración del colágeno ilustran la estrecha relación entre la estructura de proteína y la función de la misma.
- Para las enfermedades por prion, esbozar los eventos generales en su patología molecular, y nombrar las formas de vida afectadas en cada una.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

En la Naturaleza, la forma sigue a la función. Para que un polipéptido recién sintetizado madure hacia una proteína que sea funcional desde el punto de vista biológico, capaz de catalizar una reacción metabólica, impulsar el movimiento celular, o formar las varillas y los cables macromoleculares que proporcionan integridad estructural a pelo, huesos, tendones y dientes, debe plegarse hacia una disposición tridimensional específica, conocida como **conformación**. Además, durante la maduración, las **modificaciones postraduccionales** pueden añadir nuevos grupos químicos o eliminar segmentos peptídicos transitoriamente necesarios. Las deficiencias genéticas o nutricionales que obstaculizan la maduración de proteínas son nocivas para la salud. Algunos ejemplos de las primeras comprenden enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, encefalopatía espongiforme ovina (*scrapie*) y bovina ("enfermedad de las vacas locas") y enfermedad de Alzheimer. El escorbuto representa una deficiencia nutricional que altera la maduración de proteínas.

CONFORMACIÓN EN CONTRASTE CON CONFIGURACIÓN

A menudo, los términos "configuración" y "conformación" son confundidos entre sí. **Configuración** alude a la relación geométrica entre un grupo dado de átomos, por ejemplo, los que distinguen entre L-aminoácidos y D-aminoácidos. La interconversión de alternativas *configuracionales* requiere el rompimiento (y reformación) de los enlaces covalentes. Por otra parte, **conformación** se refiere a la relación espacial de cada átomo en una molécula. La interconversión entre confórmeros ocurre sin rotura de enlace covalente, con retención de la configuración y, de manera típica, por medio de rotación alrededor de enlaces simples.

EN UN INICIO LAS PROTEÍNAS FUERON CLASIFICADAS POR SUS CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS

En su primer enfoque, los científicos abordaron las relaciones entre estructura y función en proteínas separándolas en clases con base en propiedades como solubilidad, forma o la presencia de grupos no proteínicos. Así, por ejemplo, las proteínas que pueden ser extraídas de las células usando soluciones acuosas a pH fisiológico y fuerza iónica son clasificadas como **solubles**. La extracción de **proteínas de membrana integrales** requiere disolución de la membrana con detergentes. Las **proteínas globulares** son moléculas compactas, de forma más o menos esférica, con **proporciones axiales** (la proporción entre sus dimensiones más corta y más larga) de no más de 3. Casi todas las enzimas son proteínas globulares. En contraste, muchas proteínas estructurales adoptan conformaciones muy extendidas; tales **proteínas fibrosas** poseen proporciones axiales de 10 o más.

Las **lipoproteínas** y **glucoproteínas** contienen lípidos y carbohidratos unidos de manera covalente, respectivamente. La mioglobina, la hemoglobina, los citocromos y muchas otras **metaloproteínas** contienen iones metálicos estrechamente asociados. Si bien han surgido métodos de clasificación más precisos con base en la similitud, u **homología**, en la secuencia y la estructura tridimensional de aminoácidos, aún se usan muchos términos de clasificación antiguos.

LAS PROTEÍNAS SE CONSTRUYEN USANDO PRINCIPIOS MODULARES

Las proteínas desempeñan complejas funciones físicas y catalíticas al colocar grupos químicos específicos en una disposición tridimensional precisa. El andamio polipeptídico que contiene estos grupos debe adoptar una conformación tanto eficiente desde el punto de vista funcional como fuerte en el aspecto físico. A primera vista, la biosíntesis de polipéptidos comprendidos en decenas de miles de átomos individuales parecería en extremo desafiante. Cuando se considera que un polipéptido típico puede adoptar $\geq 10^{50}$ conformaciones distintas, el plegado hacia la conformación apropiada para su función biológica parecería ser aún más difícil. En la síntesis de los esqueletos polipeptídicos de proteínas se emplea un pequeño grupo de bloques de construcción comunes o módulos, los aminoácidos, unidos por una conexión común, el enlace peptídico (caps. 3 y 4). De manera similar, una vía modular por pasos simplifica el plegado y el procesamiento de polipéptidos recién sintetizados hacia proteínas maduras.

LOS CUATRO ÓRDENES DE LA ESTRUCTURA DE PROTEÍNAS

La naturaleza modular de la síntesis y el plegamiento de las proteína están incorporados en el concepto de órdenes de estructura de proteína: **estructura primaria**, la secuencia de los aminoácidos en una cadena polipeptídica; **estructura secundaria**, el plegado de segmentos de polipéptido cortos (3 a 30 residuos) y contiguos, hacia unidades ordenadas de manera geométrica; **estructura terciaria**, el montaje de unidades estructurales secundarias hacia unidades funcionales de mayor tamaño como el polipéptido maduro y los dominios que lo componen y, por último, **estructura cuaternaria**, el número y los tipos de unidades polipeptídicas de proteínas oligoméricas y su disposición espacial.

ESTRUCTURA SECUNDARIA

Los enlaces peptídicos restringen conformaciones secundarias posibles

La rotación libre sólo es posible alrededor de dos de los tres enlaces covalentes del esqueleto polipeptídico: el carbono α (Cα) al carbono carbonilo (Co), y el Cα al nitrógeno (figura 3-4). El carácter de doble enlace parcial del enlace peptídico que une el Co al nitrógeno α requiere que el carbono carbonilo, el oxígeno carbonilo y el nitrógeno α permanezcan coplanares, lo que evita la rotación. El ángulo alrededor del enlace de Cα—N recibe el nombre de ángulo fi (Φ), mientras que aquel ubicado alrededor del enlace de Co—Cα es el ángulo psi (ψ). Para aminoácidos que no son glicina, casi ninguna combinación de ángulos fi y psi se permite debido a obstáculo estérico (**figura 5-1**). Las conformaciones de prolina son aún más restringidas debido a la ausencia de rotación libre del enlace N—Cα.

Las regiones de estructura secundaria ordenada surgen cuando una serie de residuos aminoacilo adoptan ángulos fi y psi similares. Los segmentos extendidos (p. ej., asas) de polipéptidos llegan a poseer diversos ángulos de ese tipo. Los ángulos que

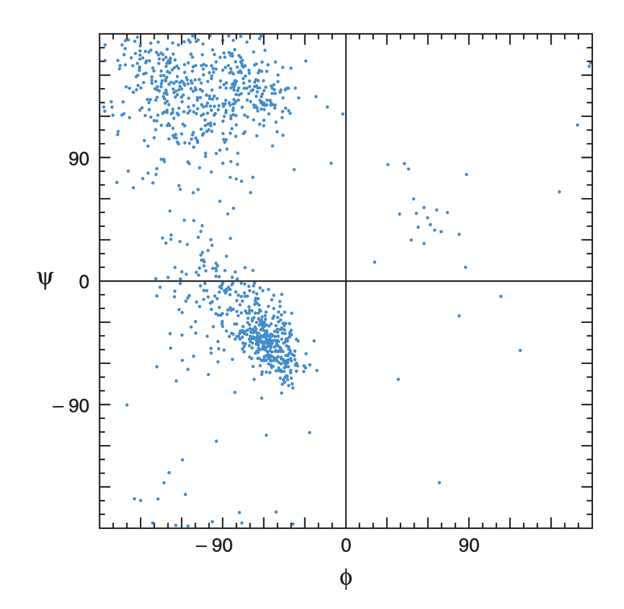


FIGURA 5–1 Gráfico de Ramachandran de los ángulos fi (Φ) y psi (ψ) de la cadena principal para unos 1 000 residuos no glicina en ocho proteínas cuyas estructuras se obtuvieron con alta resolución. Los puntos representan combinaciones permisibles, mientras que los espacios indican combinaciones prohibidas de ángulos fi y psi. (Reproducida, con autorización, de Richardson JS: The anatomy and taxonomy of protein structures. Adv Protein Chem 1981;34:167. Copyright © 1981. Reimpresa con autorización de Elsevier.)

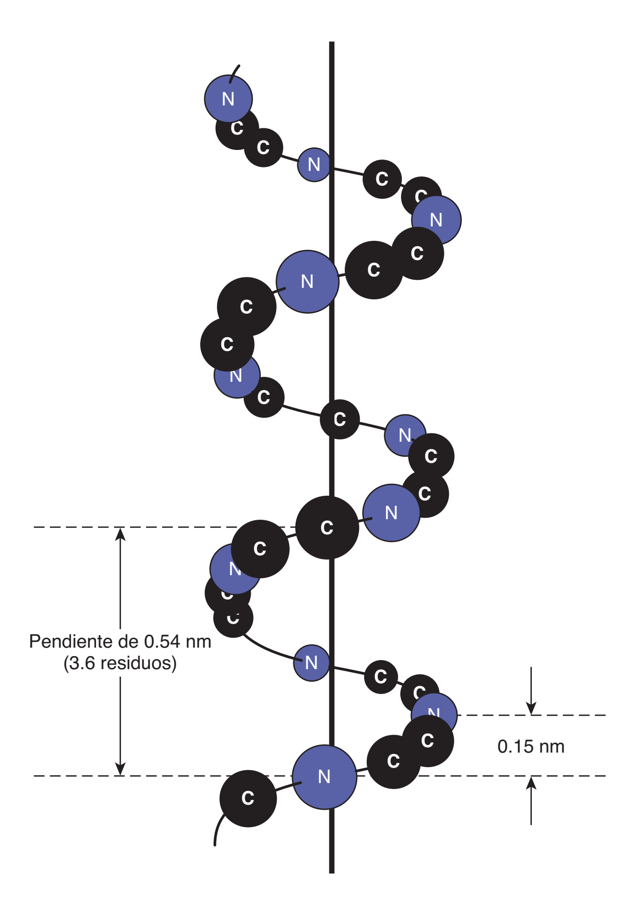


FIGURA 5–2 Orientación de los átomos de la cadena principal de un péptido alrededor del eje de una hélice α.

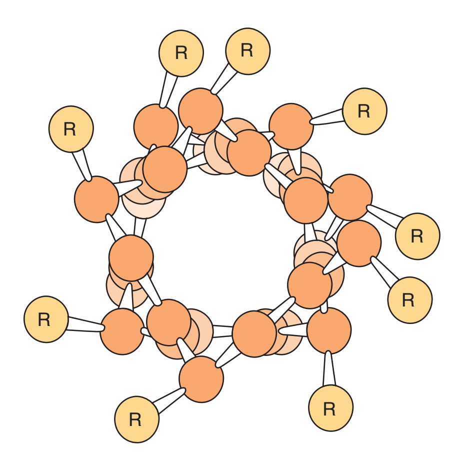


FIGURA 5–3 Eje de una hélice α visto desde arriba. Las cadenas laterales (R) están en el exterior de la hélice. Los radios de van der Waals de los átomos son de mayor tamaño que el que se muestra aquí; por ende, casi no hay espacio libre dentro de la hélice. (Ligeramente modificada y reproducida, con autorización, de Stryer L: *Biochemistry,* 3rd ed. Freeman, 1988. Copyright © 1988 W.H. Freeman and Company.)

definen los dos tipos más frecuentes de estructura secundaria, la **hélice α** y la **hoja β**, caen dentro de los cuadrantes inferior y superior izquierdos de un gráfico de Ramachandran, respectivamente (figura 5-1).

Hélice α

El esqueleto polipeptídico de una hélice α está torcido una cantidad igual alrededor de cada carbono α con un ángulo fi de aproximadamente −57° y un ángulo psi de alrededor de −47°. Un giro completo de la hélice contiene un promedio de 3.6 residuos aminoacilo y la distancia ascendente por cada giro (su *pendiente*) es de 0.54 nm (**figura 5-2**). Los grupos R de cada residuo aminoacilo en una hélice α se orientan hacia afuera (**figura 5-3**). Las proteínas sólo contienen L-aminoácidos, para los cuales una hélice α diestra es con mucho la más estable, y en las proteínas sólo hay hélices α diestras. En los diagramas esquemáticos de proteínas se representa a las hélices α como espirales o cilindros.

La estabilidad de una hélice α proviene sobre todo de enlaces (puentes) de hidrógeno formados entre el oxígeno del enlace peptídico del grupo carbonilo y el átomo de hidrógeno del grupo amino (que contiene nitrógeno) del enlace peptídico del cuarto residuo en dirección descendente por la cadena de polipéptido (**figura 5-4**). La capacidad para formar el número máximo de enlaces de hidrógeno, complementada por interacciones de van der Waals en el centro de esta estructura estrechamente apretada, brinda la fuerza impulsora termodinámica para la formación de una hélice α. Dado que el nitrógeno del enlace peptídico de

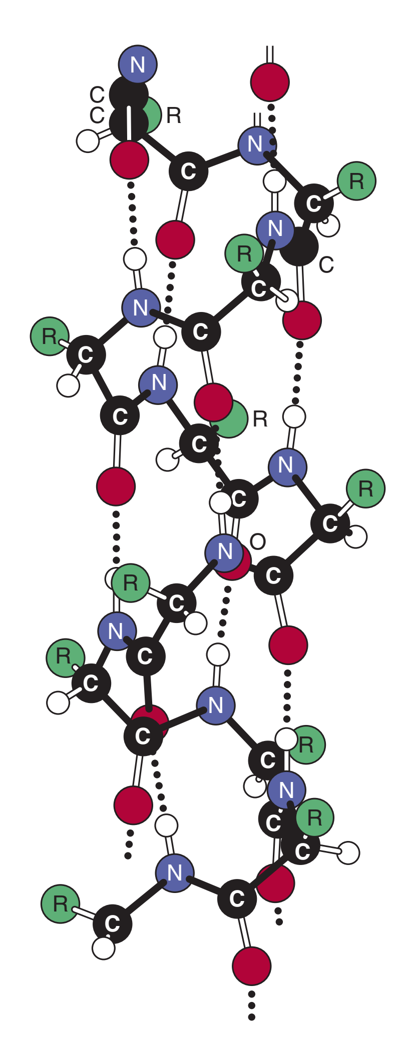


FIGURA 5–4 Los enlaces de hidrógeno (líneas punteadas) formados entre átomos de H y O estabilizan un polipéptido en una conformación helicoidal α. (Reimpresa, con autorización, de Haggis GH *et al* (1964), "*Introduction to Molecular Biology*". Science 146:1455-1456. Reimpresa con autorización de AAAS.)

prolina carece de un átomo de hidrógeno para contribuir a un enlace de hidrógeno, la prolina sólo puede adaptarse de manera estable dentro del primer giro de una hélice α. Cuando está presente en otro sitio, la prolina altera la conformación de la hélice y produce una flexión. Debido a su pequeñez, la glicina a menudo también induce flexiones en hélices α.

En muchas hélices α predominan grupos R hidrofóbicos en un lado del eje de la hélice e hidrofílicos en el otro. Estas **hélices anfipáticas** están bien adaptadas a la formación de interfases entre regiones polares y no polares como el interior hidrofóbico de una proteína y su ambiente acuoso. Las agrupaciones de hélices anfipáticas pueden crear un canal, o poro, que permite que moléculas polares específicas pasen a través de membranas celulares hidrofóbicas.

Hoja β

Es la segunda (de ahí su denominación "β") estructura secundaria regular reconocible en las proteínas. Los residuos aminoácidos de una hoja β, cuando se observan de canto, forman un modelo en zigzag o plisado en el cual los grupos R de residuos adyacentes apuntan en direcciones opuestas. A diferencia del esqueleto compacto de la hélice α, el esqueleto peptídico de la hoja β está muy extendido; sin embargo, al igual que la hélice α, gran parte de la estabilidad de las hojas β se deriva de enlaces de hidrógeno entre los oxígenos carbonilo y los hidrógenos amida de enlaces peptídicos. En contraste con la hélice α, estos enlaces se forman con segmentos adyacentes de hoja β (**figura 5-5**).

Las hojas β que interactúan pueden disponerse para formar una hoja β **paralela**, en la cual los segmentos adyacentes de la cadena polipeptídica proceden en la misma dirección amino hacia carbonilo, o una hoja **antiparalela**, en la cual proceden en direcciones opuestas (figura 5-5). Una u otra configuración permite el número máximo de enlaces de hidrógeno entre segmentos, o hebras de la hoja. Casi ninguna hoja β es perfectamente plana, sino que tiende a mostrar una torsión hacia la derecha. Las agrupaciones de hebras torcidas de hoja β forman el centro de muchas proteínas globulares (**figura 5-6**). En diagramas esquemáticos se representa a las hojas β como flechas que apuntan en la dirección amino hacia carboxilo terminal.

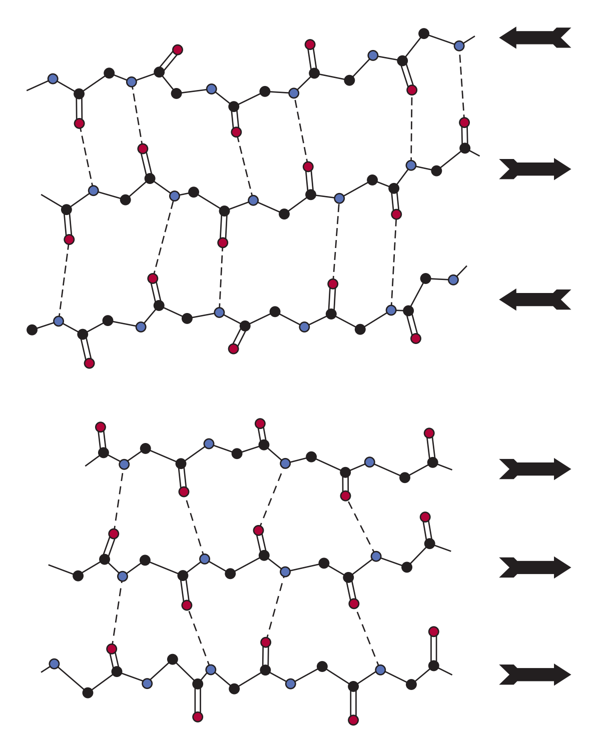


FIGURA 5–5 Espaciamiento y ángulos de enlace de los puentes de hidrógeno de hojas β plegadas antiparalelas y paralelas. Las flechas indican la dirección de cada hebra. Los enlaces de hidrógeno están indicados por líneas punteadas; los átomos de nitrógeno α (donadores de hidrógeno) y los átomos de oxígeno (aceptores de hidrógeno) participantes se muestran en color azul y rojo, respectivamente. Los átomos de carbono del esqueleto se muestran en color negro. Para favorecer la claridad en la presentación, se omitieron los grupos R y los átomos de hidrógeno. *Arriba*: hoja β antiparalela; pares de enlaces de hidrógeno alternan entre estar muy juntos y muy separados, y estar orientados en dirección aproximadamente perpendicular al esqueleto polipeptídico. *Abajo*: hoja β paralela; los enlaces de hidrógeno están espaciados de manera uniforme, pero se inclinan en direcciones alternas.

Asas y flexiones

A grandes rasgos, la mitad de los residuos en una proteína globular "típica" reside en hélices α u hojas β, y la otra mitad en asas, giros, flexiones y otras características conformacionales extendidas. "Giros y flexiones" alude a segmentos cortos de aminoácidos que unen dos unidades de estructura secundaria, como dos hebras adyacentes de una hoja β antiparalela. Un giro β comprende cuatro residuos aminoacilo, en los cuales el primer residuo está enlazado con hidrógeno al cuarto, lo que da por resultado una vuelta de 180° cerrada (**figura 5-7**). La prolina y la glicina a menudo están presentes en giros β.

Las asas son regiones que contienen residuos más allá del número mínimo necesario para conectar regiones adyacentes de estructura secundaria; sin embargo, las asas, que tienen conformación irregular, desempeñan funciones biológicas clave. Para muchas enzimas, las asas que forman puentes entre dominios encargados de la unión de sustratos a menudo contienen residuos aminoacilo que participan en catálisis. La **razón de hélice-asa-hélice** es proporcionar la porción de unión a oligonucleótido de muchas proteínas de unión a DNA como represores y factores de transcripción. Los motivos estructurales, como el motivo de hélice-asa-hélice que son intermedios entre estructuras secundarias y terciarias, a menudo se denominan **estructuras supersecundarias**. Dado que muchas asas y flexiones residen sobre la superficie de proteínas, quedan expuestas a solventes y constituyen sitios fácilmente accesibles, o **epítopos**, para reconocimiento y unión de anticuerpos.

Si bien las asas carecen de regularidad estructural manifiesta, muchas adoptan una conformación específica estabilizada por medio de formación de enlaces de hidrógeno, puentes salinos, e interacciones hidrofóbicas con otras porciones de la proteína; sin embargo, no todas las porciones de proteínas están necesariamente ordenadas. Las proteínas pueden contener regiones "desordenadas", a menudo en el extremo amino o carboxilo terminal, caracterizadas por una alta flexibilidad conformacional. En muchos casos, estas regiones desordenadas adoptan una conformación ordenada en el momento de unión de un ligando. Tal flexibilidad estructural permite que dichas regiones actúen como conmutadores controlados por ligando que afectan la estructura y la función de proteínas.

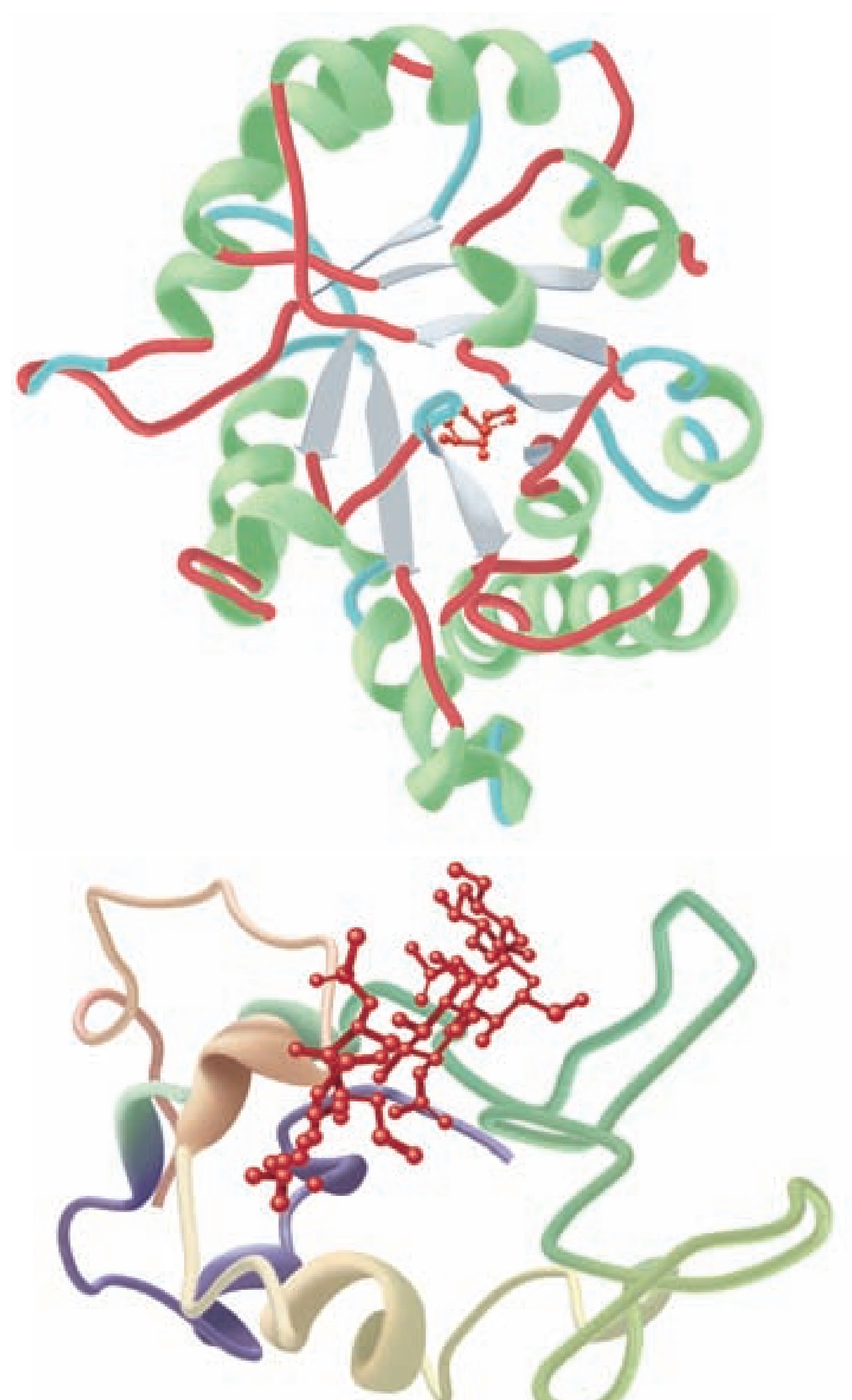


FIGURA 5–6 Ejemplos de la estructura terciaria de proteínas. Arriba: complejo de la enzima triosa fosfato isomerasa con el análogo de sustrato 2-fosfoglicerato (rojo). Advierta la disposición armoniosa y simétrica de hojas β alternantes (azul claro) y hélices α (verde), con las hojas β formando un centro en barril β rodeado por las hélices. (Adaptada de Protein Data Bank ID no. 1o5x.) Abajo: complejo de lisozima con el análogo de sustrato penta-N-acetil quitopentaosa (rojo). El color de la cadena polipeptídica está graduado a lo largo del espectro visible desde púrpura (N terminal) hacia marrón claro (C terminal). Note cómo la forma cóncava del dominio forma una bolsa de unión para el pentasacárido, la ausencia de hoja β, y la proporción alta de asas y flexiones. (Adaptada de Protein Data Bank ID no. 1sfb.)

Estructura terciaria y cuaternaria

El término "estructura terciaria" se refiere a toda la conformación tridimensional de un polipéptido. Indica, en espacio tridimensional, de qué modo las características estructurales secundarias —hélices, hojas, flexiones, giros y asas— se ensamblan para formar dominios, y estos últimos se relacionan desde el punto de vista espacial entre sí. Un **dominio** es una sección de estructura proteínica suficiente para desempeñar una tarea química o física particular, como la unión de un sustrato u otro ligando. Casi todos los dominios son de naturaleza modular, contiguos tanto en secuencia primaria como en espacio tridimensional (**figura 5-8**). Las proteínas simples, en particular las que interactúan con un sustrato único, como lisozima o triosa fosfato isomerasa (figura 5-6), y la proteína de almacenamiento de oxígeno mioglobina (cap. 6), a menudo constan de un dominio único. En contraste, la lactato deshidrogenasa comprende dos dominios, un dominio de unión a NAD^+ N terminal, y un dominio de unión a C terminal para el segundo sustrato, piruvato (figura 5-8). La lactato deshidrogenasa pertenece a la familia de oxidorreductasas que comparten un dominio de unión a $NAD(P)^+$ N terminal, conocido como el **pliegue de Rossmann**. Al fusionar

FIGURA 5–7 Un giro beta que enlaza dos segmentos de hoja β antiparalela. La línea punteada indica el enlace de hidrógeno entre el primer y cuarto aminoácidos del segmento de cuatro residuos Ala-Gli-Asp-Ser.

el pliegue de Rossmann a diversos dominios C terminal, se genera una gran familia de oxidorreductasas que utilizan $NAD(P)^+/NAD(P)H$ para la oxidación y reducción de una amplia gama de metabolitos. Los ejemplos son alcohol deshidrogenasa, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, malato deshidrogenasa, quinona oxidorreductasa, 6-fosfogluconato deshidrogenasa, D-glicerato deshidrogenasa, formato deshidrogenasa y 3α, 20β-hidroxiesteroide deshidrogenasa.

No todos los dominios unen sustratos. Los dominios de membrana hidrofóbicos fijan proteínas a membranas o les permiten unir membranas. Las secuencias de localización dirigen proteínas hacia ubicaciones subcelulares o extracelulares específicas, como el núcleo, las mitocondrias, vesículas secretoras, etc. Los dominios reguladores desencadenan cambios de la función de proteína en respuesta a la unión de efectores alostéricos o modificaciones covalentes (cap. 9). Combinar módulos de dominio proporciona una ruta fácil para generar proteínas de gran complejidad estructural y funcional (**figura 5-9**).

Las proteínas que contienen múltiples dominios también pueden ensamblarse por medio de la asociación de múltiples polipéptidos o protómeros. La estructura cuaternaria define la composición polipeptídica de una proteína y, para una proteína oligomérica, las relaciones espaciales entre sus protómeros o subunidades. Las proteínas monoméricas constan de una cadena polipeptídica única; las proteínas diméricas contienen dos cadenas polipeptídicas. Los homodímeros contienen dos copias de la misma cadena polipeptídica, mientras que en un heterodímero los polipéptidos difieren. Se usan letras griegas (α, β, γ y demás) para distinguir diferentes subunidades de una proteína heterooligomérica, en tanto que los números en subíndice indican el número de cada tipo de subunidad. Por ejemplo, α_4 designa una proteína homotetramérica, y $\alpha_2\beta_2\gamma$ una proteína con cinco subunidades de tres tipos diferentes.

Dado que incluso las proteínas pequeñas contienen muchos miles de átomos, las representaciones de la estructura de proteínas que indican la posición de cada átomo por lo general son demasiado complejas como para interpretarlas con facilidad. De este modo, se usan diagramas esquemáticos simplificados para representar características clave de las estructuras terciaria y cuaternaria de una proteína. Los diagramas de cinta (figuras 5-6 y 5-8) trazan la conformación del esqueleto polipeptídico; cilindros y flechas indican regiones de una hélice α y una hoja β, respectivamente. En una representación aún más simple, segmentos de línea que enlazan los carbonos α indican la trayectoria del esqueleto polipeptídico. Estos diagramas esquemáticos a menudo incluyen las cadenas laterales de aminoácidos seleccionados responsables de relaciones específicas entre estructura y función.

MÚLTIPLES FACTORES ESTABILIZAN LAS ESTRUCTURAS TERCIARIA Y CUATERNARIA

Los órdenes superiores de la estructura de proteínas se estabilizan de manera primordial —y a menudo de forma exclusiva— por medio de interacciones no covalentes. Entre éstas, las principales son interacciones hidrofóbicas que impulsan casi todas las cadenas laterales de aminoácidos hidrofóbicas hacia el interior de la proteína y las protegen contra el agua. Otros contribuidores importantes comprenden enlaces de hidrógeno y puentes salinos entre los carboxilatos de ácidos aspártico y glutámico, y las cadenas laterales con carga opuesta de residuos lisilo, arginilo e histidilo protonados. Si bien son individualmente débiles en comparación con un enlace covalente típico de 80 a 120 kcal/mol, en conjunto estas interacciones confieren un alto grado de estabilidad a la conformación funcional desde el punto de vista biológico de una proteína, del mismo modo que en un cierre de velcro se aprovecha la fuerza acumulativa de múltiples asas y ganchos de plástico.

Algunas proteínas contienen enlaces disulfuro covalentes (S—S) que enlazan los grupos sulfhidrilo de residuos cisteinilo. La formación de enlaces disulfuro comprende oxidación de los grupos cisteinilo sulfhidrilo y requiere oxígeno. Los enlaces disulfuro intrapolipeptídicos aumentan la estabilidad de la conformación plegada de un péptido, mientras que los enlaces disulfuro interpolipeptídicos estabilizan la estructura cuaternaria de ciertas proteínas oligoméricas.

LA ESTRUCTURA TRIDIMENSIONAL SE DETERMINA MEDIANTE CRISTALOGRAFÍA CON RAYOS X O POR MEDIO DE ESPECTROSCOPIA CON NMR

Cristalografía con rayos X

Después de que en 1960 John Kendrew determinó la estructura tridimensional de la mioglobina, la cristalografía con rayos X reveló las estructuras de miles de macromoléculas biológicas que van desde proteínas hasta muchos oligonucleótidos y unos pocos virus. En la solución de esta estructura por medio de cristalografía con rayos X, primero se precipita una proteína en condiciones que forman cristales grandes y bien ordenados. Para establecer las condiciones óptimas para la formación de cristales se utilizan algunos microlitros de la proteína en una matriz de variables (temperatura, pH, presencia de sales o solutos orgánicos como polietilenglicol). El primer paso es colocar los cristales



FIGURA 5–8 Polipéptidos que contienen dos dominios. Arriba: estructura tridimensional de una unidad monomérica de la enzima tetramérica lactato deshidrogenasa con los sustratos NADH (rojo) y piruvato (azul) unidos. No todos los enlaces en el NADH se muestran. El color de la cadena polipeptídica está graduado a lo largo del espectro visible desde azul (N terminal) hasta anaranjado (C terminal). Note cómo la porción N terminal del polipéptido forma un dominio contiguo, que abarca la porción izquierda de la enzima, que se encarga de unir NADH. De modo similar, la porción C terminal forma un dominio contiguo que se encarga de unir piruvato. (Adaptada de Protein Data Bank ID no. 3ldh.) Abajo: estructura tridimensional de la subunidad catalítica de la proteína cinasa dependiente de cAMP (cap. 42) con los análogos de sustrato ADP (rojo) y péptido (púrpura) unidos. El color de la cadena polipeptídica está graduado a lo largo del espectro visible desde azul (N terminal) hasta anaranjado (C terminal). Las proteína cinasas transfieren el grupo γ-fosfato del ATP a sustratos proteína y péptido (cap. 9). Note cómo la porción N terminal del polipéptido forma un dominio contiguo rico en hoja β que se une a ADP. De modo similar, la porción C terminal forma un dominio contiguo, rico en hélice α, que se encarga de unir el sustrato péptido. (Adaptada de Protein Data Bank ID no. 1jbp.)

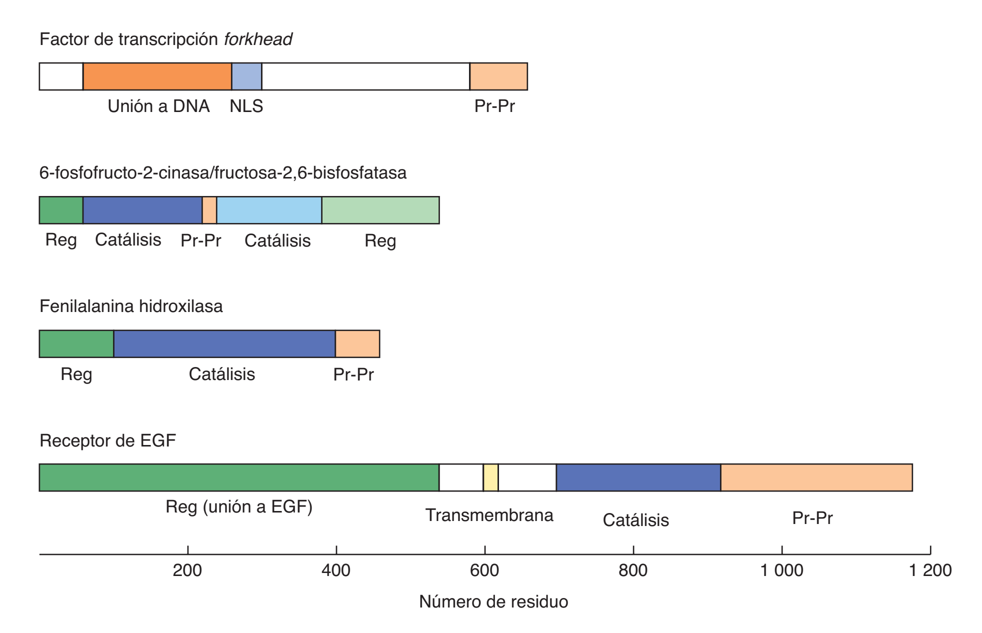


FIGURA 5–9 **Algunas proteínas multidominio.** Los rectángulos representan las secuencias polipeptídicas de: un factor de transcripción *forkhead;* 6-fosfofructo-2-cinasa/fructosa-2,6-bifosfatasa, una enzima bifuncional cuyas actividades están controladas de una manera recíproca por efectores alostéricos y modificación covalente (cap. 20); fenilalanina hidroxilasa (caps. 27 y 29) cuya actividad es estimulada por fosforilación de su dominio regulador, y el receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGF) (cap. 41), una proteína transmembrana cuyo dominio proteína cinasa intracelular está regulado por medio de la unión de la hormona peptídica EGF a su dominio extracelular. Los dominios reguladores están coloreados de verde; los dominios catalíticos, de azul oscuro y azul claro; los dominios de interacción entre una proteína y otra, de anaranjado claro; los dominios de unión a DNA, de anaranjado oscuro; las secuencias de localización nuclear, de azul medio, y los dominios transmembrana, de amarillo. Las actividades de cinasa y bifosfatasa de la 6-fosfofructo-2-cinasa/fructosa-2,6-bifosfatasa son catalizadas por los dominios catalíticos cercanos N y C terminales, respectivamente.

en capilares de cuarzo e irradiarlos con rayos X monocromáticos de longitud de onda aproximada de 0.15 nm para confirmar que son proteína, no sal. A continuación los cristales de proteína se pueden congelar en nitrógeno líquido para recolección subsiguiente de un grupo de datos de alta resolución. Los modelos formados mediante los rayos X que en su trayectoria son difractados por los átomos se registran sobre una placa fotográfica o su equivalente en computadoras como un modelo circular de puntos de intensidad variable. A continuación se analizan los datos inherentes en estas manchas usando un método matemático llamado *síntesis de Fourier*, que suma la recepción de onda. Las amplitudes de onda se relacionan con la intensidad de la mancha, pero dado que las ondas no están secuenciadas, a continuación es necesario determinar la relación entre sus fases.

En el método tradicional para la solución del "problema de fase" se emplea **desplazamiento isomorfo**. Antes de la radiación, un átomo, con una "firma" de rayos X distintiva, se introduce en un cristal en posiciones conocidas en la estructura primaria de la proteína. En el desplazamiento isomorfo de átomo pesado por lo general se usa mercurio o uranio, que se une a residuos de cisteína. En un método alternativo se utiliza la expresión de proteínas recombinantes codificadas por plásmido, en las cuales el selenio remplaza al azufre de la metionina. En la expresión se usa un huésped bacteriano auxotrófico para la biosíntesis de metionina y un medio definido en el cual la selenometionina remplaza a la metionina. De manera alternativa, si la estructura desconocida es similar a una que ya se ha resuelto, el **remplazo molecular** en un modelo existente proporciona una manera atractiva de secuenciar los datos sin el uso de átomos pesados. Por último, los resultados de secuenciar y las sumas de Fourier proporcionan un perfil de densidad de electrones o mapa tridimensional de cómo los átomos se conectan o relacionan entre sí.

Cristalografía con rayos X de Laue

La capacidad de algunas enzimas cristalizadas para catalizar reacciones químicas sugiere de manera firme que las estructuras determinadas mediante cristalografía son, de hecho, representativas de las estructuras presentes en solución libre. Sin embargo, la cristalografía clásica proporciona un cuadro en esencia estático de una proteína que quizá sufra importantes cambios estructurales *in vivo*, como los que acompañan a la catálisis enzimática. En el método de Laue se utiliza difracción de rayos X *policromáticos* y muchos cristales. Se evita el proceso (que consume mucho tiempo) de rotar el cristal en el haz de rayos X, lo que permite el uso de tiempos de exposición en extremo breves. En la detección de los movimientos de residuos o dominios de una enzima durante catálisis se usan cristales que contienen un análogo de sustrato inactivo o "enjaulado". Un destello intenso de luz visible divide el precursor enjaulado para que libere el sustrato e inicie catálisis de una manera controlada con precisión. Al

usar este método, es factible reunir datos durante periodos tan breves como de algunos nanosegundos.

Espectroscopia con resonancia magnética nuclear (NMR)

Es un importante complemento para la cristalografía con rayos X y mide la absorbancia de energía electromagnética de radiofrecuencia por ciertos núcleos atómicos. Los isótopos "activos en NMR" de elementos importantes desde el punto de vista biológico comprenden ^{1}H, ^{13}C, ^{15}N y ^{31}P. La frecuencia, o desviación química, a la cual un núcleo particular absorbe energía está en función tanto del grupo funcional dentro del cual reside, como de la proximidad de otros núcleos activos en la NMR. Alguna vez limitados a metabolitos y macromoléculas relativamente pequeñas, ≤30 kDa, en la actualidad es posible analizar proteínas y proteínas complejas proteínicas >100 kDa mediante una NMR. La espectroscopia con NMR bidimensional permite construir una representación tridimensional de una proteína al determinar la proximidad de estos núcleos entre sí. En la espectroscopia con NMR se analizan proteínas en una solución acuosa, lo cual no sólo obvia la necesidad de formar cristales (una ventaja particular cuando se trata con proteínas de membrana difíciles de cristalizar), sino que también hace posible la observación en tiempo real de los cambios de conformación que acompañan a la unión a ligando o catálisis. También ofrece la posibilidad de que algún día logre observarse la estructura y la dinámica de proteínas (y metabolitos) dentro de células vivas.

Modelado molecular

Un adjunto cada vez más útil para la determinación empírica de la estructura tridimensional de proteínas es el uso de tecnología de computadora para modelado molecular. Cuando se conoce la estructura tridimensional, es factible utilizar programas de **dinámica molecular** para simular la estructura conformacional de una proteína, y la manera en la cual factores como temperatura, pH, fuerza iónica o sustituciones de aminoácidos influyen sobre estos movimientos. Los programas de **acoplamiento molecular** simulan las interacciones que tienen lugar cuando una proteína se encuentra con un sustrato, inhibidor u otro ligando. La investigación virtual para moléculas que tienen probabilidades de interactuar con sitios clave sobre una proteína de interés biomédico se usa de manera extensa con el fin de facilitar el descubrimiento de nuevos fármacos.

El modelado molecular también se emplea para inferir la estructura de proteínas para las cuales aún no se dispone de estructuras cristalográficas con rayos X o NMR. Los algoritmos de estructuras secundarias sopesan la propensión de residuos específicos a quedar incorporados hacia hélices α u hojas β en proteínas ya estudiadas para predecir la estructura secundaria de otros polipéptidos. En el **modelado de homología**, la estructura tridimensional conocida de una proteína se usa como una plantilla sobre la cual erigir un modelo de la estructura *probable* de una proteína relacionada. Los científicos están trabajando para idear programas de computadora que predecirán de manera fiable la conformación tridimensional de una proteína de manera directa a partir de su secuencia primaria, lo que permitirá determinar las estructuras de muchas de las proteínas desconocidas para las cuales en la actualidad se carece de plantillas.

PLEGADO DE PROTEÍNA

Las proteínas son moléculas dinámicas desde el punto de vista conformacional que pueden plegarse hacia su conformación competente desde el punto de vista funcional en un marco de tiempo de milisegundos, y a menudo pueden volver a plegarse si su conformación queda alterada o desnaturalizada. ¿De qué modo se logra este notorio proceso de plegado? El plegado hacia el estado natural no comprende una búsqueda desordenada de todas las estructuras posibles. Las proteínas desnaturalizadas no son sólo espirales al azar, los contactos naturales son favorecidos y regiones de la estructura natural prevalecen incluso en el estado desnaturalizado. A continuación se comentan los factores que facilitan el plegado y la recuperación del mismo, así como los conceptos actuales y mecanismos propuestos basados en más de 40 años de experimentación en su mayor parte *in vitro*.

La conformación natural de una proteína es favorecida desde el punto de vista termodinámico

El número de combinaciones distintas de ángulos fi y psi que especifican conformaciones potenciales de incluso un polipéptido hasta cierto punto pequeño —15 kDa— es asombrosamente vasto. Las proteínas se guían a través de este vasto laberinto de posibilidades mediante la termodinámica. Dado que la conformación relevante desde el punto de vista biológico —o natural— de una proteína por lo general es la que resulta más favorecida desde el punto de vista energético, el conocimiento de la conformación natural está especificado en la secuencia primaria. No obstante, si se esperara que un polipéptido encontrara su conformación natural mediante exploración al azar de todas las conformaciones posibles, el proceso requeriría miles de millones de años para completarse; queda claro que en la naturaleza el plegado de una proteína en las células tiene lugar de una manera más ordenada y guiada.

El plegado es modular

El plegado de proteínas por lo general ocurre mediante un proceso por pasos. En la primera etapa, a medida que el polipéptido recién sintetizado surge a partir del ribosoma, segmentos cortos se pliegan hacia unidades estructurales secundarias que proporcionan regiones locales de estructura organizada; el plegado ahora se reduce a la selección de una disposición apropiada de este número relativamente pequeño de elementos estructurales secundarios. En la segunda etapa, las regiones hidrofóbicas se orientan hacia el interior de la proteína, lejos del solvente, lo que forma un "glóbulo fundido", un polipéptido parcialmente plegado en el cual los módulos de estructura secundaria se reordenan hasta que se logra la conformación madura de la proteína. Este proceso es ordenado, mas no rígido; hay considerable flexibilidad en las formas y el orden en el cual los elementos de estructura secundaria pueden reordenarse. En general, cada elemento de estructura secundaria o supersecundaria facilita el plegado apropiado al dirigir el proceso de plegado hacia la conformación natural y lo aleja de las alternativas no productivas. En el caso de proteínas oligoméricas, los protómeros individuales tienden a plegarse antes de que se asocien con otras subunidades.

Proteínas auxiliares ayudan al plegado

En condiciones de laboratorio apropiadas, muchas proteínas volverán a plegarse de manera espontánea después de ser **desnaturalizadas** (esto es, desdobladas) mediante tratamiento con ácido o base, agentes caotrópicos o detergentes. Sin embargo, la restitución del plegado en estas circunstancias es lenta —de minutos a horas—. Más aún, algunas proteínas no vuelven a plegarse de manera espontánea *in vitro* y a menudo forman **agregados** insolubles, complejos desordenados de polipéptidos desdoblados o parcialmente plegados que se sostienen juntos principalmente mediante interacciones hidrofóbicas. Los agregados representan callejones sin salida no productivos en el proceso de plegado. Las células emplean proteínas auxiliares para acelerar el proceso de plegado y guiarlo hacia una conclusión productiva.

Chaperones

Las proteínas **chaperón** participan en el plegado de más de la mitad de las proteínas de mamíferos. La familia de chaperones hsp70 (proteína de choque por calor de 70 kDa) se une a secuencias cortas de aminoácidos hidrofóbicos que emergen mientras un nuevo polipéptido está siendo sintetizado, lo que los protege contra solvente. Los chaperones evitan la agregación; de este modo, proporcionan una oportunidad para la formación de elementos estructurales secundarios apropiados y su coalescencia subsiguiente hacia un glóbulo fundido. La familia de chaperones hsp60, a veces llamada **chaperoninas**, difiere en secuencia y estructura de hsp70 y sus homólogos; así, hsp60 actúa más tarde en el proceso de plegado, a menudo junto con un chaperón hsp70. La cavidad central del chaperón hsp60 en forma de rosquilla, proporciona un ambiente protegido en el cual un polipéptido puede plegarse hasta que todas las regiones hidrofóbicas están sepultadas en su interior, lo que previene cualquier tendencia hacia la agregación.

Proteína disulfuro isomerasa

Los enlaces disulfuro entre polipéptidos y dentro de los mismos estabilizan las estructuras terciaria y cuaternaria; sin embargo, la formación de enlace disulfuro es inespecífica. En condiciones oxidantes, una cisteína dada puede formar un enlace disulfuro con el —SH de cualquier residuo cisteinilo accesible. Al catalizar el intercambio de disulfuro, la rotura de un enlace S—S y su reformación con una diferente cisteína compañera, la proteína disulfuro isomerasa facilita la formación de enlaces disulfuro y estabiliza la conformación natural de una proteína.

Prolina-*cis, trans*-isomerasa

Todos los enlaces peptídicos X-Pro —donde X representa cualquier residuo— se sintetizan en la configuración *trans*. Sin embargo, de los enlaces X-Pro de proteínas maduras, alrededor de 6% es *cis*. La configuración *cis* es en particular frecuente en giros β. La isomerización desde *trans* hacia *cis* es catalizada por la enzima prolina-*cis, trans*-isomerasa (**figura 5-10**).

El plegado es un proceso dinámico

Las proteínas son moléculas dinámicas desde el punto de vista conformacional, mismas que se pueden plegar y desdoblar cientos o miles de veces durante su lapso de vida. ¿De qué modo las proteínas, una vez desdobladas, se vuelven a plegar y restituyen su conformación funcional? En primer lugar, el desdoblamiento rara vez lleva a la aleatorización completa de la cadena polipeptídica dentro de la célula. Las proteínas desdobladas por lo general retienen varios contactos y regiones de estructura secundaria que facilitan el proceso de reaparición del plegado. En segundo lugar, las proteínas chaperón pueden "rescatar" proteínas desdobladas que han quedado atrapadas en el aspecto termodinámico en un callejón sin salida con plegado erróneo, al desdoblar regiones hidrofóbicas y proporcionar una segunda oportunidad para que se plieguen de manera productiva. El glutatión puede reducir enlaces disulfuro inapropiados que quizá se formen al momento de la exposición a agentes oxidantes, como O_2, peróxido de hidrógeno o superóxido (cap. 52).

FIGURA 5–10 **La isomerización del enlace peptídico *N*-α_1 prolilo desde una configuración *cis* hacia una *trans* respecto al esqueleto del polipéptido.**

LA PERTURBACIÓN DE LA CONFORMACIÓN DE LA PROTEÍNA PUEDE TENER CONSECUENCIAS PATOLÓGICAS

Priones

Las encefalopatías espongiformes transmisibles, o **enfermedades por prión**, son enfermedades neurodegenerativas mortales caracterizadas por cambios espongiformes, gliomas astrocíticos y pérdida neuronal originada por el depósito de agregados proteínicos insolubles en células neurales. Comprenden la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob en seres humanos, encefalopatía espongiforme en ovejas y encefalopatía espongiforme en el ganado vacuno (enfermedad de las vacas locas). Una forma variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, la vCJD, misma que afecta a pacientes más jóvenes, se relaciona con trastornos psiquiátricos y conductuales de inicio temprano. Las enfermedades por prión llegan a manifestarse como trastornos infecciosos, genéticos o esporádicos. Dado que es imposible identificar un gen viral o bacteriano que codifica la proteína prión patológica, la fuente y el mecanismo de transmisión de la enfermedad por prión permanecieron sin determinarse durante mucho tiempo.

Hoy es reconocido que las enfermedades por prión son trastornos de conformación de proteína que se transmiten al alterar la conformación y, por ende, las propiedades físicas, de proteínas endógenas para el huésped. La proteína relacionada con prión, PrP, de seres humanos, una glucoproteína codificada en el brazo corto del cromosoma 20, en circunstancias normales es monomérica y rica en hélice α. Las proteínas prión patológicas sirven como las plantillas para la transformación conformacional de la PrP normal, conocida como PrPc (celular), hacia PrPsc

("*scrapie*"); esta última es rica en hojas β con muchas cadenas laterales aminoacilo hidrofóbicas expuestas a solvente. A medida que se forma cada nueva molécula de PrPsc, desencadena la producción de aún más variantes patológicas en una reacción en cadena conformacional. Dado que las moléculas de PrPsc se relacionan con fuerza entre sí por medio de sus regiones hidrofóbicas expuestas, las unidades de PrPsc que se están acumulando muestran coalescencia y forman agregados resistentes a proteasas insolubles. Puesto que un prión o una proteína relacionada con prión patológico pueden servir como la plantilla para la transformación conformacional de muchas veces su número de moléculas de PrPc, las enfermedades por prión pueden transmitirse mediante la proteína sola sin afección del DNA o el RNA.

Enfermedad de Alzheimer

La reaparición del plegado o el plegado erróneo de otra proteína endógena al tejido cerebral de seres humanos, el amiloide β, es una característica notoria de la enfermedad de Alzheimer. Si bien la causa principal de dicha enfermedad aún no se ha dilucidado, las placas seniles y los haces neurofibrilares característicos contienen agregados de la proteína amiloide β, polipéptido de 4.3 kDa producido por división proteolítica de una proteína de mayor tamaño conocida como proteína precursora amiloide. En pacientes con enfermedad de Alzheimer, las cifras de amiloide β aumentan, y esta proteína pasa por una transformación conformacional desde un estado rico en hélice α soluble hacia un estado abundante en hoja β y propenso a la autoagregación. La apolipoproteína E ha quedado comprendida como un mediador potencial de esta transformación conformacional.

Talasemias β

Las talasemias se producen por defectos genéticos que alteran la síntesis de una de las subunidades polipeptídicas de la hemoglobina (cap. 6). En el transcurso de la síntesis de hemoglobina que ocurre durante el desarrollo de eritrocitos, un chaperón específico llamado proteína estabilizadora de hemoglobina α (o proteína estabilizante de cadena alfa) (AHSP) se une a subunidades α de hemoglobina libres en espera de incorporación hacia el multímero de hemoglobina. En ausencia de este chaperón, las subunidades de hemoglobina α libres se agregan y el precipitado resultante tiene efectos tóxicos sobre el eritrocito en desarrollo. Investigaciones en ratones modificados desde el punto de vista genético sugieren una participación para la AHSP en la modulación de la gravedad de la talasemia β en seres humanos.

EL COLÁGENO ILUSTRA LA FUNCIÓN DEL PROCESAMIENTO POSTRADUCCIONAL EN LA MADURACIÓN DE PROTEÍNA

La maduración de proteína a menudo comprende la formación y la rotura de enlaces covalentes

La maduración de proteínas hacia su estado estructural final a menudo comprende la división o formación (o ambas) de enlaces covalentes, un proceso de **modificación postraduccional**. Muchos polipéptidos en un inicio se sintetizan como precursores de mayor tamaño llamados **proproteínas**. Los segmentos polipeptídicos "extra" en estas proteínas a menudo sirven como secuencias líder que dirigen un polipéptido hacia un organelo particular o facilitan su paso a través de una membrana. Otros segmentos aseguran que la actividad en potencia perjudicial de una proteína —como las proteasas tripsina y quimotripsina—, permanezca inhibida en tanto estas proteínas lleguen a su destino final. Sin embargo, una vez que se satisfacen esos requerimientos transitorios, las regiones peptídicas ahora superfluas se eliminan mediante proteólisis selectiva. Quizá tengan lugar otras modificaciones covalentes que añaden nuevas funcionalidades químicas a una proteína. La maduración del colágeno ilustra ambos procesos.

El colágeno es una proteína fibrosa

El colágeno es la más abundante de las proteínas fibrosas y constituye más de 25% de la masa proteínica en el organismo humano; otras proteínas fibrosas importantes son la queratina y la miosina. Dichas proteínas fibrosas representan una fuente primaria de fuerza estructural para las células (esto es, el citoesqueleto) y los tejidos. La flexibilidad y la fuerza de la piel dependen de una red entrelazada de fibras de colágeno y queratina, mientras que los huesos y los dientes son apuntalados por una red subyacente de fibras de colágeno análogas a las varillas de acero en el concreto reforzado. El colágeno también está presente en tejidos conjuntivos, como ligamentos y tendones. El alto grado de resistencia a la tracción necesario para satisfacer estas funciones estructurales requiere proteínas alargadas, las cuales se caracterizan por secuencias de aminoácidos repetitivas y una estructura secundaria regular.

El colágeno forma una triple hélice singular

El tropocolágeno, la unidad de repetición de una fibra de colágeno madura, consta de tres hebras de polipéptidos, cada una de las cuales contiene alrededor de 1 000 aminoácidos, agrupados en una conformación singular, la triple hélice de colágeno (**figura 5-11**). Una fibra de colágeno madura forma una varilla alargada con una proporción axial de alrededor de 200. Tres hebras polipeptídicas entrelazadas, que se tuercen hacia la izquierda, se envuelven entre sí en dirección hacia la derecha para formar la triple hélice de colágeno. La lateralidad opuesta de esta superhélice y sus polipéptidos componentes hacen que la triple hélice de colágeno sea muy resistente al desdoblamiento —el mismo principio usado en cables de acero de puentes colgantes—.

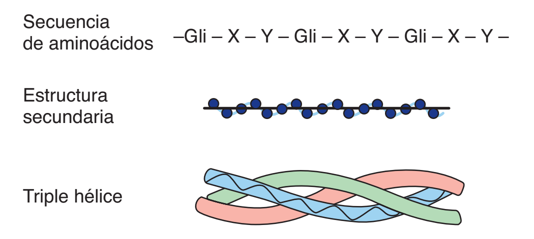


FIGURA 5–11 Estructuras primaria, secundaria y terciaria del colágeno.

Una triple hélice de colágeno tiene 3.3 residuos por giro y una elevación por cada residuo de cerca de dos veces la de una hélice α. Los grupos R de cada hebra polipeptídica de la triple hélice se aprietan de manera tan estrecha que, para que se ajusten, uno debe ser H, de modo que cada tercer residuo aminoácido en el colágeno es un residuo glicina. La disposición de las tres hebras proporciona una colocación apropiada de las glicinas requisito en toda la hélice. El colágeno también tiene alto contenido de prolina e hidroxiprolina, lo que da un modelo Gli-X-Y repetitivo (figura 5-11), en el cual la Y por lo general es prolina o hidroxiprolina.

Las triples hélices de colágeno se estabilizan mediante enlaces de hidrógeno entre residuos en *diferentes* cadenas polipeptídicas, proceso auxiliado por los grupos hidroxilo de residuos hidroxiprolilo. Enlaces covalentes formados entre residuos lisilo modificados tanto dentro de cadenas polipeptídicas como entre las mismas, proporcionan estabilidad adicional.

El colágeno se sintetiza a partir de un precursor de mayor tamaño

El colágeno en un inicio se sintetiza como un polipéptido precursor de mayor tamaño, el procolágeno. Muchos residuos prolilo y lisilo de procolágeno se hidroxilan mediante la prolilo hidroxilasa y la lisilo hidroxilasa, enzimas que requieren ácido ascórbico (vitamina C; caps. 27 y 44). Los residuos hidroxiprolilo e hidroxilisilo proporcionan capacidad adicional de formación de enlaces de hidrógeno que estabiliza la proteína madura. Además, las glucosilo y galactosilo transferasas fijan residuos glucosilo o galactosilo a los grupos hidroxilo de residuos hidroxilisilo específicos.

La porción central del polipéptido precursor se asocia entonces con otras moléculas y forma la triple hélice característica; dicho proceso va acompañado de la eliminación del amino terminal globular y de los extremos carboxilo terminales del polipéptido precursor mediante proteólisis selectiva. La lisilo oxidasa, proteína que contiene cobre, que convierte grupos ε-amino en aldehídos, modifica ciertos residuos lisilo. Los aldehídos pueden pasar por una condensación de aldol para formar un doble enlace C═C, o para formar una base de Schiff (eneimina) con el grupo ε-amino de un residuo lisilo no modificado, que después se reduce y forma un enlace sencillo C—N. Estos enlaces covalentes unen los polipéptidos individuales y confieren a la fibra fuerza y rigidez excepcionales.

Los trastornos nutricionales y genéticos pueden alterar la maduración del colágeno

La compleja serie de eventos en la maduración del colágeno proporciona un modelo que ilustra las consecuencias biológicas de la maduración incompleta del polipéptido. El defecto mejor conocido de la biosíntesis de colágeno es el escorbuto, un resultado de una deficiencia en la dieta de vitamina C requerida por las prolilo y lisilo hidroxilasas. El déficit resultante del número de residuos hidroxiprolina e hidroxilisina socava la estabilidad conformacional de las fibras de colágeno, lo que lleva a encías sangrantes, hinchazón de articulaciones, cicatrización inadecuada de heridas y por último la muerte. El síndrome de Menkes, caracterizado por pelo rizado y retraso del crecimiento, refleja una deficiencia en la dieta del cobre requerido por la lisilo oxidasa, que cataliza un paso clave en la formación de enlaces covalentes que fortalecen las fibras de colágeno.

Los trastornos genéticos de la biosíntesis de colágeno comprenden varias formas de osteogénesis imperfecta, la cual se distingue por la presencia de huesos frágiles. En el síndrome de Ehlers-Danlos, un grupo de trastornos del tejido conjuntivo que comprenden alteración de la integridad de las estructuras de apoyo, defectos en los genes que codifican para el colágeno-1, procolágeno *N*-peptidasa o lisilo hidroxilasa, dan por resultado articulaciones móviles y anormalidades de la piel (cap. 48).

RESUMEN

- Las proteínas pueden clasificarse con base en su solubilidad, forma o función, o según la presencia de un grupo prostético, como hem.
- La estructura primaria codificada por un gen de un polipéptido es la secuencia de sus aminoácidos. Su estructura secundaria se produce por plegado de polipéptidos con enlaces de hidrógeno, como la hélice α, la hoja plegada β, flexiones β y asas. Las combinaciones de estos motivos pueden formar estructuras supersecundarias.
- La estructura terciaria alude a las relaciones entre dominios estructurales secundarios. La estructura cuaternaria de proteínas que tienen dos o más polipéptidos (proteínas oligoméricas) se refiere a las relaciones espaciales entre diversos tipos de polipéptidos.
- Las estructuras primarias se estabilizan por medio de enlaces peptídicos covalentes. Los órdenes de estructura superiores se estabilizan mediante fuerzas débiles: enlaces de hidrógeno múltiples, enlaces salinos (electrostáticos) y asociación de grupos R hidrofóbicos.
- El ángulo fi (Φ) de un polipéptido es el ángulo alrededor del enlace C_α—N; el ángulo psi (Ψ) es el que hay alrededor del enlace C_α—C_o. Casi todas las combinaciones de ángulos fi-psi son denegadas debido a obstaculización estérica. Los ángulos fi-psi que forman la hélice α y la hoja β caen dentro de los cuadrantes inferior y superior izquierdos de un gráfico de Ramachandran, respectivamente.
- Aún hay poca comprensión en cuanto al proceso del plegado de proteína. En términos generales, los segmentos cortos de polipéptidos recién sintetizados se pliegan hacia unidades estructurales secundarias. Las fuerzas que sepultan regiones hidrofóbicas desde el solvente después impulsan al polipéptido parcialmente plegado hacia un "glóbulo fundido" en el cual los módulos de estructura secundaria se reordenan para dar la conformación natural de la proteína.
- Las proteínas que ayudan al plegado comprenden la proteína disulfuro isomerasa, prolina-*cis, trans*-isomerasa y los chaperones que participan en el plegado de más de la mitad de las proteínas de mamífero. Los chaperones protegen contra solvente a los polipéptidos recién sintetizados, además de que proporcionan un ambiente para que elementos de la estructura secundaria surjan y muestren coalescencia para formar glóbulos fundidos.
- La cristalografía de rayos X y la NMR son técnicas clave utilizadas para estudiar órdenes superiores de la estructura proteínica.

- Los priones —partículas de proteína que carecen de ácido nucleico— causan encefalopatías espongiformes transmisibles y mortales, como la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob o las encefalopatías espongiformes ovina y bovina. Las enfermedades por prión comprenden una estructura secundaria-terciaria alterada de una proteína natural, la PrPc. Cuando esta última interactúa con su isoforma patológica, PrPSc, su conformación se transforma desde una estructura predominantemente helicoidal α hacia la estructura con hoja β característica de la PrPSc.
- El colágeno ilustra el estrecho enlace entre la estructura de proteínas y la función biológica. Las enfermedades de la maduración del colágeno comprenden el síndrome de Ehlers-Danlos y el escorbuto, la enfermedad por deficiencia de vitamina C.

REFERENCIAS

Caughey B, Baron GS, Chesebro B, et al: Getting a grip on prions: oligomers, amyloids, and pathological membrane interactions. Annu Rev Biochem 2009;78:177.

Chiti F, Dobson CM: Protein misfolding, functional amyloid, and human disease. Annu Rev Biochem 2006;75:519.

Foster MP, McElroy CA, Amero CD: Solution NMR of large molecules and assemblies. Biochemistry 2007;46:331.

Gothel SF, Marahiel MA: Peptidyl-prolyl *cis–trans* isomerases, a superfamily of ubiquitous folding catalysts. Cell Mol Life Sci 1999;55:423.

Hardy J: Toward Alzheimer therapies based on genetic knowledge. Annu Rev Med 2004;55:15.

Hartl FU, Hayer-Hartl M: Converging concepts of protein folding in vitro and in vivo. Nat Struct Biol 2009;16:574.

Ho BK, Thomas A, Brasseur R: Revisiting the Ramachandran plot: hard-sphere repulsion, electrostatics, and H-bonding in the α-helix. Protein Sci 2003;12:2508.

Hristova K, Wimley WC, Mishra VK, et al: An amphipathic alpha-helix at a membrane interface: a structural study using a novel X-ray diffraction method. J Mol Biol 1999;290:99.

Irani DN, Johnson RT: Diagnosis and prevention of bovine spongiform encephalopathy and variant Creutzfeldt-Jakob disease. Annu Rev Med 2003;54:305.

Jorgensen WL: The many roles of computation in drug discovery. Science 2004;303:1813.

Khare SD, Dokholyan NV: Molecular mechanisms of polypeptide aggregation in human disease. Curr Protein Pept Sci 2007;8:573.

Kim J, Holtzman DM: Prion-like behavior of amyloid-ß. Science 2010;330:918.

Kong Y, Zhou S, Kihm AJ, et al: Loss of alpha-hemoglobin-stabilizing protein impairs erythropoiesis and exacerbates beta-thalassemia. J Clin Invest 2004;114:1457.

Myllyharju J: Prolyl 4-hydroxylases, the key enzymes of collagen biosynthesis. Matrix Biol 2003;22:15.

Rider MH, Bertrand L, Vertommen D, et al: 6-Phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase: head-to-head with a bifunctional enzyme that controls glycolysis. Biochem J 2004;381:561.

Shoulders MD, Raines RT: Collagen structure and stability. Annu Rev Biochem 2009; 78:929.

Stoddard BL, Cohen BE, Brubaker M, et al: Millisecond Laue structures of an enzyme-product complex using photocaged substrate analogs. Nat Struct Biol 1998;5:891.

Wegrzyn RD, Deuerling E: Molecular guardians for newborn proteins: ribosome-associated chaperones and their role in protein folding. Cellular Mol Life Sci 2005;62:2727.

Young JC, Moarefi I, Hartl FU: *Hsp*90: a specialized but essential protein-folding tool. J Cell Biol 2001;154:267.

CAPÍTULO

6

Proteínas: mioglobina y hemoglobina

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir las similitudes y diferencias estructurales más importantes entre la mioglobina y la hemoglobina.
- Dibujar curvas de unión para la oxigenación de mioglobina y hemoglobina.
- Identificar los enlaces covalentes y otras asociaciones estrechas entre el hem y la globina en la oximioglobina y la oxihemoglobina.
- Explicar por qué la función fisiológica de la hemoglobina requiere que su curva de unión a O_2 sea sigmoidea más que hiperbólica.
- Explicar el papel de un ambiente obstaculizado sobre la capacidad de la hemoglobina para unirse a monóxido de carbono.
- Definir la P_{50} e indicar su importancia en el transporte de oxígeno y el aporte del mismo a los tejidos.
- Describir los cambios estructurales y conformacionales en la hemoglobina que acompañan su oxigenación y su desoxigenación subsiguiente.
- Explicar el papel del 2,3-bisfosfoglicerato (BPG) en la unión a oxígeno y el aporte de este último.
- Esbozar el papel de la hemoglobina en el transporte de CO_2 y protón, y describir los cambios acompañantes de la pK_a del grupo imidazolio importante.
- Describir las consecuencias estructurales para la HbS de la disminución de la pO_2.
- Identificar el defecto metabólico que ocurre como consecuencia de talasemias α y β.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las proteínas hem, mioglobina y hemoglobina, mantienen un aporte de oxígeno esencial para el metabolismo oxidativo. La mioglobina, una proteína monomérica del tejido muscular rojo, almacena oxígeno como una reserva contra la privación del mismo. La hemoglobina, una proteína tetramérica de los eritrocitos, transporta O_2 hacia los tejidos, y regresa CO_2 y protones hacia los pulmones. El cianuro y el monóxido de carbono son letales porque alteran la función fisiológica de las proteínas hem citocromo oxidasa y hemoglobina, respectivamente. La estructura secundaria-terciaria de las subunidades de hemoglobina semeja a la de la mioglobina. Sin embargo, la estructura tetramérica de la hemoglobina permite interacciones cooperativas fundamentales para su función. Por ejemplo, el 2,3-bisfosfoglicerato (BPG) promueve la liberación eficiente de O_2 al estabilizar la estructura cuaternaria de la desoxihemoglobina. La hemoglobina y la mioglobina ilustran tanto relaciones entre estructura y función de proteína, como la base molecular de enfermedades genéticas, como la drepanocitosis y las talasemias.

EL HEM Y EL HIERRO FERROSO CONFIEREN LA CAPACIDAD PARA ALMACENAR OXÍGENO Y TRANSPORTARLO

La mioglobina y la hemoglobina contienen **hem (hemo)**, un tetrapirrol cíclico que consta de cuatro moléculas de pirrol enlazadas por puentes de metileno. Esta red planar de dobles enlaces conjugados absorbe luz visible y da al hem un color rojo oscuro. Los sustituyentes en las posiciones β del hem son grupos metilo (M), vinilo (V) y propionato (Pr) dispuestos en el orden M, V, M, V, M, Pr, Pr, M (**figura 6-1**). El átomo de hierro ferroso (Fe^{2+}) reside en el centro del tetrapirrol planar. Otras proteínas con grupos prostéticos tetrapirrol que contienen metal comprenden los citocromos (Fe y Cu) y la clorofila (Mg) (cap. 31). La oxidación y reducción de los átomos de Fe y Cu de los citocromos son esenciales para su función biológica como transportadores de electrones. En contraste, la oxidación del Fe^{2+} de la mioglobina o de la hemoglobina hacia Fe^{3+} destruye su actividad biológica.

FIGURA 6–1 Hem. Los anillos pirrol y los carbonos del puente metileno son coplanares, y el átomo de hierro (Fe^{2+}) reside casi en el mismo plano. Las posiciones de coordinación quinta y sexta del Fe^{2+} son directamente perpendiculares al plano del anillo hem —y se encuentran directamente por arriba y por abajo del mismo—. Observe la naturaleza de los grupos sustituyentes metilo (azul), vinilo (verde) y propionato (anaranjado) sobre los carbonos β de los anillos pirrol, el átomo de hierro central (rojo), y la ubicación del lado polar del anillo hem (aproximadamente a las 7:00 de la carátula del reloj) que mira hacia la superficie de la molécula de mioglobina.

La mioglobina es rica en hélice α

El oxígeno almacenado en la mioglobina del músculo rojo, es liberado durante la privación de O_2 (p. ej., ejercicio intenso) para que las mitocondrias del músculo lo utilicen en la síntesis aeróbica de ATP (cap. 13). La mioglobina, un polipéptido de 153 residuos aminoacilo (masa molecular [MW] de 17 000), se pliega hacia una forma compacta que mide 4.5 × 3.5 × 2.5 nm (**figura 6-2**). Proporciones extraordinariamente altas, alrededor de 75%, de los residuos están presentes en ocho hélices α diestras de 7 a 20 residuos. Empezando en el amino terminal, éstas se denominan hélices A-H. Típico de las proteínas globulares, la superficie de la mioglobina es rica en aminoácidos que tienen cadenas laterales polares y potencialmente cargadas, mientras que, salvo sólo un par de excepciones, la interior contiene sólo residuos como Leu, Val, Fen y Met, que posee grupos R no polares. Las excepciones son His E7 e His F8, los residuos séptimo y octavo en hélices E y F, que yacen cerca del hierro hem, donde funcionan en la unión de O_2.

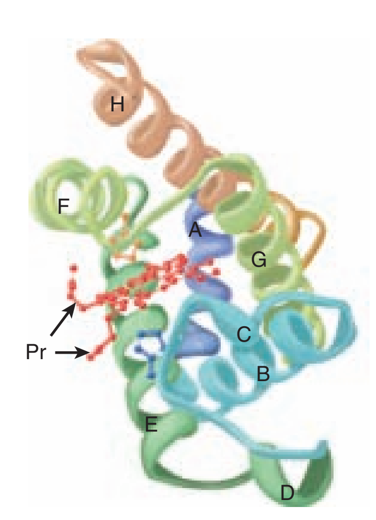


FIGURA 6–2 Estructura tridimensional de la mioglobina. Diagrama de cinta que traza el esqueleto polipeptídico de la mioglobina. El color de la cadena polipeptídica está graduado a lo largo del espectro visible desde azul (N terminal) hasta marrón claro (C terminal). El grupo prostético hem se muestra en color rojo. Las regiones helicoidales α están designadas de la A a la H. Los residuos histidina distal (E7) y proximal (F8) se resaltan en azul y naranja, respectivamente. Note de qué modo los sustituyentes propionato polares (Pr) se proyectan hacia afuera del hem hacia el solvente. (Adaptada de Protein Data Bank ID no. 1a6n.)

Las histidinas F8 y E7 desempeñan funciones singulares en la unión de oxígeno

El hem de la mioglobina yace en una hendidura entre las hélices E y F orientado con sus grupos propionato polares mirando hacia la superficie de la globina (figura 6-2). El resto reside en el interior no polar. La quinta posición de coordinación del hierro está ocupada por un nitrógeno del anillo de imidazol de la **histidina proximal**, His F8. La **histidina distal**, His E7, se ubica en el lado del anillo hem opuesto a His F8.

El hierro se mueve hacia el plano del hem cuando el oxígeno está unido

El hierro de la mioglobina no oxigenada yace a 0.03 nm (0.3 Å) fuera del plano del anillo hem, hacia His F8; por ende, el hem "se pliega" un poco. Cuando el O_2 ocupa la sexta posición de coordinación, el hierro se mueve hacia dentro 0.01 nm (0.1 Å) del plano del anillo hem. De este modo, la oxigenación de la mioglobina se acompaña de movimiento del hierro, de His F8, y de residuos enlazados a esta última.

La apomioglobina proporciona un ambiente adverso para el hierro hem

Cuando el O_2 se une a la mioglobina, el enlace entre el primer átomo de oxígeno y el Fe^{2+} es perpendicular al plano del anillo hem. El enlace que une el primer y segundo átomos de oxígeno yace a un ángulo de 121° al plano del hem, lo que orienta al segundo oxígeno en dirección contraria a la histidina distal (**figura 6-3**, izquierda). Esto permite que haya superposición máxima entre el hierro y uno de los pares de electrones solitarios en los átomos de oxígeno hibridados sp^2 que yacen a un ángulo

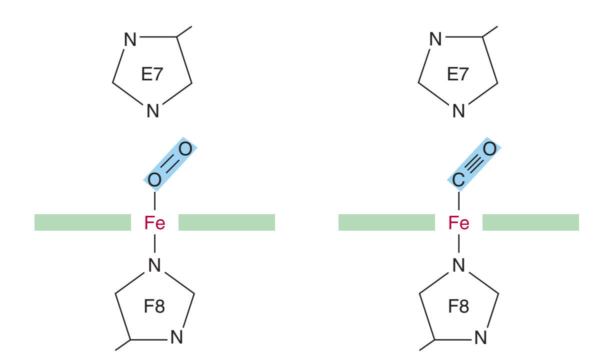


FIGURA 6–3 Ángulos para la unión de oxígeno y monóxido de carbono (CO) al hierro hem de la mioglobina. La histidina E7 distal obstaculiza el enlace de CO en el ángulo preferido (90°) al plano del anillo hem.

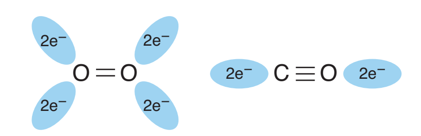


FIGURA 6–4 Orientación de los pares de electrones solitarios respecto a los enlaces O═O y C≡O de oxígeno y monóxido de carbono. En el oxígeno molecular, la formación del doble enlace entre los dos átomos de oxígeno es facilitada por la adopción de un estado de hibridación sp^2 por el electrón de valencia de cada átomo de oxígeno. Como consecuencia, los dos átomos de la molécula de oxígeno y cada par solitario de electrones son coplanares y están separados por un ángulo de alrededor de 120° (izquierda). En contraste, los dos átomos del monóxido de carbono están unidos por un triple enlace, que requiere que los átomos de carbono y oxígeno adopten un estado de hibridación sp. En este estado los pares solitarios de electrones y los triples enlaces están dispuestos de una manera lineal, donde están separados por un ángulo de 180° (derecha).

de alrededor de 120° respecto al eje del doble enlace O═O (**figura 6-4**, izquierda). El hem aislado se une al monóxido de carbono (CO) con una fuerza 25 000 veces mayor que la que le une al oxígeno. Dado que el CO está presente en pequeñas cantidades en la atmósfera, y surge en las células a partir del catabolismo del hem, ¿por qué el CO no desplaza por completo al O_2 del hierro hem? La explicación aceptada es que las apoproteínas de la mioglobina y la hemoglobina crean un **ambiente adverso**. Cuando el CO se une a hem aislado, los tres átomos (Fe, C y O) yacen en posición perpendicular al plano del hem. Estas características geométricas maximizan la superposición entre el par de electrones solitario sobre el oxígeno hibridado sp de la molécula de CO y el hierro Fe^{2+} (figura 6-4, derecha). Sin embargo, en la mioglobina y la hemoglobina la histidina distal impide desde el punto de vista estérico esta orientación de alta afinidad, preferida, del CO, pero no del O_2. La unión a un ángulo menos favorecido reduce la fuerza del enlace hem-CO a alrededor de 200 veces la del enlace hem-O_2 (figura 6-3, derecha) a cuyo nivel domina el gran exceso de O_2 sobre el CO normalmente presente. Sin embargo, por lo general alrededor de 1% de la mioglobina está presente combinada con CO.

LAS CURVAS DE DISOCIACIÓN DE OXÍGENO PARA LA MIOGLOBINA Y LA HEMOGLOBINA SON IDÓNEAS PARA SUS FUNCIONES FISIOLÓGICAS

¿Por qué la mioglobina no es adecuada como una proteína de transporte de O_2, pero es ideal para el almacenamiento de O_2? La relación entre la concentración, o presión parcial, de O_2 (Po_2) y la cantidad de O_2 unido se expresa como una isoterma de saturación de O_2 (**figura 6-5**). La curva de unión a oxígeno para la mioglobina es hiperbólica; por ende, la mioglobina carga O_2 con facilidad a la Po_2 del lecho capilar pulmonar (100 mm Hg). Sin embargo, dado que la mioglobina sólo libera una pequeña fracción de su O_2 unido a los valores de Po_2 que por lo general se encuentran en el músculo activo (20 mm Hg) o en otros tejidos (40 mm Hg), representa un vehículo ineficaz para el aporte de O_2. Cuando el ejercicio extenuante disminuye la Po_2 del tejido muscular a alrededor de 5 mm Hg, la mioglobina libera O_2 para

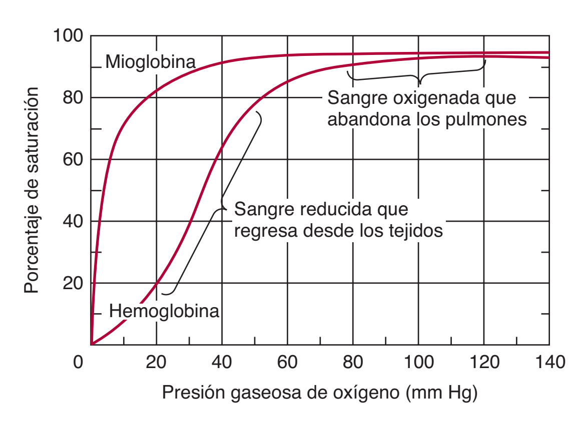


FIGURA 6–5 Curvas de unión a oxígeno de la hemoglobina y la mioglobina. La tensión de oxígeno arterial es de alrededor de 100 mm Hg; la tensión de oxígeno venoso mixto es de casi 40 mm Hg; la tensión de oxígeno capilar (músculo activo) es de cerca de 20 mm Hg, y la tensión de oxígeno mínima requerida para la citocromo oxidasa es de cerca de 5 mm Hg. La asociación de cadenas hacia una estructura tetramérica (hemoglobina) da por resultado un aporte de oxígeno mucho mayor que el que sería posible con cadenas únicas. (Modificada, con autorización, de Scriver CR *et al.* [editors]: *The Molecular and Metabolic Bases of Inherited Disease,* 7th ed. McGraw-Hill, 1995.)

la síntesis mitocondrial de ATP, lo que permite que continúe la actividad muscular.

LAS PROPIEDADES ALOSTÉRICAS DE LAS HEMOGLOBINAS DEPENDEN DE SUS ESTRUCTURAS CUATERNARIAS

Las propiedades de hemoglobinas individuales son consecuencia de su estructura cuaternaria, así como de sus estructuras secundaria y terciaria. La estructura cuaternaria de la hemoglobina confiere notorias propiedades adicionales, ausentes de la mioglobina monomérica, que la adaptan a sus funciones biológicas singulares. Las propiedades **alostéricas** (del griego *allos* "otro", *steros* "espacio") de la hemoglobina proporcionan, además, un modelo para entender otras proteínas alostéricas (cap. 18).

La hemoglobina es tetramérica

Las hemoglobinas son tetrámeros compuestos de pares de dos diferentes subunidades polipeptídicas (**figura 6-6**). Se usan letras griegas para designar cada tipo de subunidad. La composición de subunidad de las hemoglobinas principales son $\alpha_2\beta_2$ (HbA; hemoglobina normal del adulto), $\alpha_2\gamma_2$ (HbF; hemoglobina fetal), $\alpha_2\beta^S_2$ (HbS; hemoglobina de células falciformes) y $\alpha_2\delta_2$ (HbA_2; una hemoglobina menor del adulto). Las estructuras primarias de las cadenas β, γ y δ de la hemoglobina humana están muy conservadas.

La mioglobina y las subunidades β de la hemoglobina comparten estructuras secundaria y terciaria casi idénticas

A pesar de diferencias en la clase y el número de aminoácidos presentes, la mioglobina y el polipéptido β de la hemoglobina A

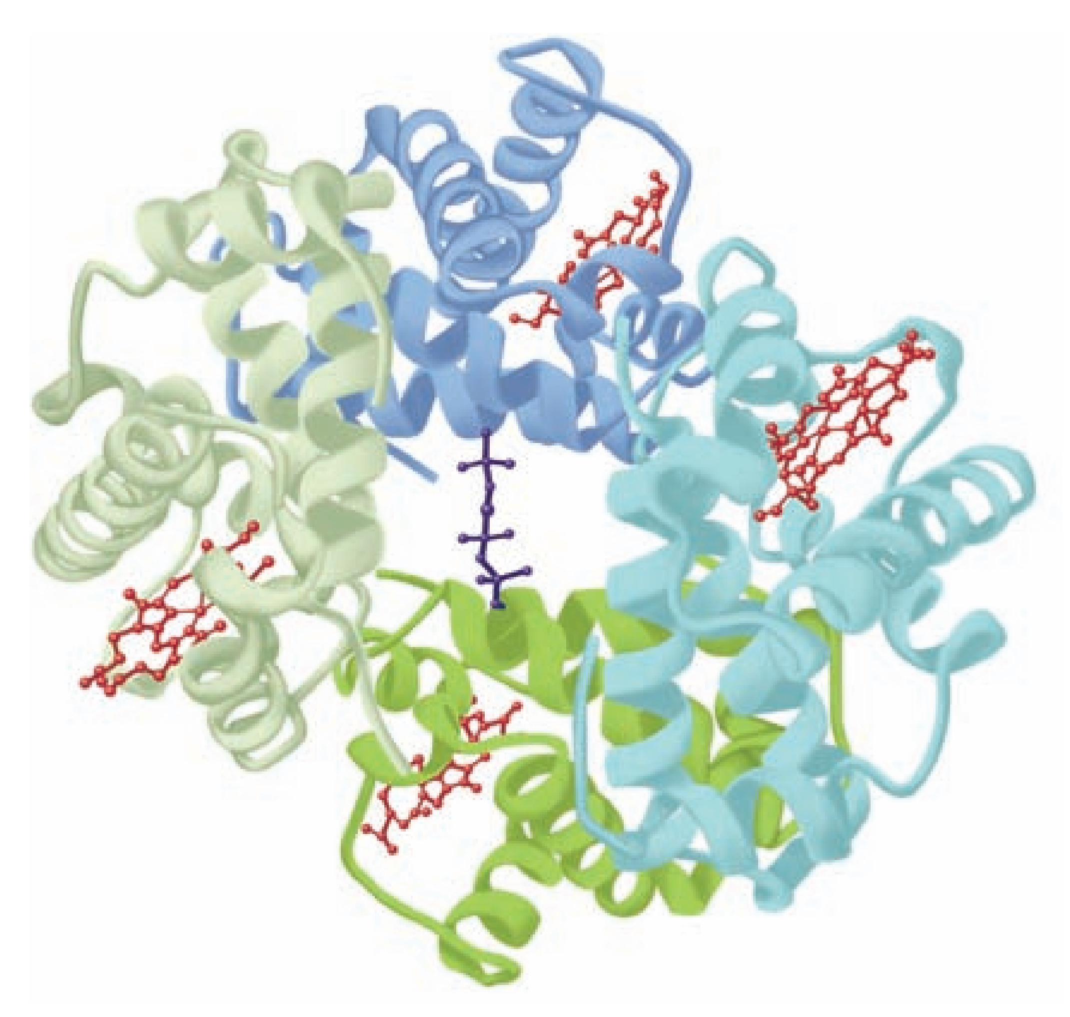


FIGURA 6–6 **Hemoglobina.** Se muestra la estructura tridimensional de la desoxihemoglobina con una molécula unida de 2,3-bisfosfoglicerato (azul oscuro). Las dos subunidades α están coloreadas en los tonos más oscuros de verde y azul, las dos subunidades β en los tonos más claros de verde y azul, y los grupos prostéticos hem en color rojo. (Adaptada de Protein Data Bank ID no. 1b86.)

tienen estructuras secundaria y terciaria casi idénticas. Las similitudes comprenden la localización del hem y las regiones helicoidales, y la presencia de aminoácidos con propiedades similares en ubicaciones comparables. Aunque posee siete —en vez de ocho— regiones helicoidales, el polipéptido α de la hemoglobina también semeja de manera estrecha a la mioglobina.

La oxigenación de la hemoglobina desencadena cambios de conformación en la apoproteína

Las hemoglobinas unen cuatro moléculas de O_2 por cada tetrámero, uno por cada hem. Una molécula de O_2 se une a un tetrámero de hemoglobina con mayor facilidad si otras moléculas de O_2 ya están unidas (figura 6-5). Este fenómeno, llamado **unión cooperativa**, permite a la hemoglobina maximizar tanto la cantidad de O_2 cargado a la Po_2 de los pulmones, como la cantidad de O_2 liberado a la Po_2 de los tejidos periféricos. Las interacciones cooperativas, una propiedad exclusiva de proteínas multiméricas, tienen importancia crucial para la vida aeróbica.

La P_{50} expresa las afinidades relativas de diferentes hemoglobinas por el oxígeno

La cantidad P_{50}, una medida de la concentración de O_2, es la presión parcial de O_2 que satura 50% de una hemoglobina dada. Dependiendo del organismo, la P_{50} puede variar de manera significativa, pero en todos los casos excederá la PO_2 de los tejidos periféricos; por ejemplo, los valores de P_{50} para la HbA y la HbF son de 26 y 20 mm Hg, respectivamente. En la placenta, tal diferencia permite que la HbF extraiga oxígeno de la HbA en la sangre de la madre; sin embargo, la HbF es subóptima posparto porque su alta afinidad por el O_2 limita la cantidad de O_2 suministrado a los tejidos.

La composición de subunidad de tetrámeros de hemoglobina sufre cambios complejos durante el desarrollo. El feto humano en un inicio sintetiza un tetrámero $\xi_2\varepsilon_2$. Hacia el final del primer trimestre, las subunidades ξ y ε han quedado remplazadas por subunidades α y γ, lo que forma HbF ($\alpha_2\gamma_2$), la hemoglobina de etapas avanzadas de la vida fetal. Si bien la síntesis de subunidades β empieza durante el tercer trimestre, dichas subunidades no remplazan por completo a las subunidades γ para producir HbA del adulto ($\alpha_2\beta_2$) sino hasta algunas semanas después del parto (**figura 6-7**).

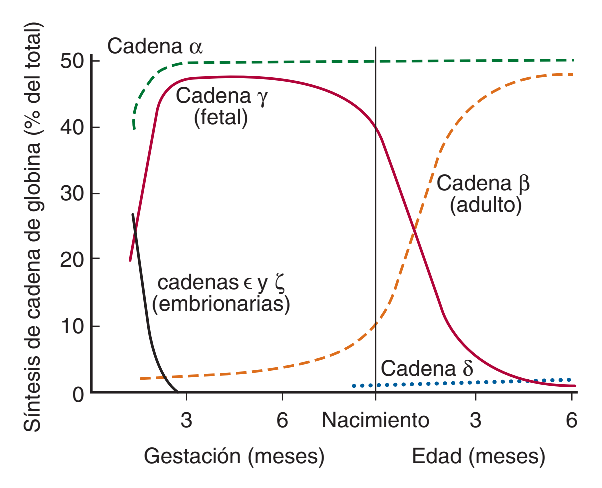


FIGURA 6–7 Patrón vinculado con el desarrollo de la estructura cuaternaria de las hemoglobinas fetal y del recién nacido. (Reproducida, con autorización, de Ganong WF: *Review of Medical Physiology,* 20th ed. McGraw-Hill, 2001.)

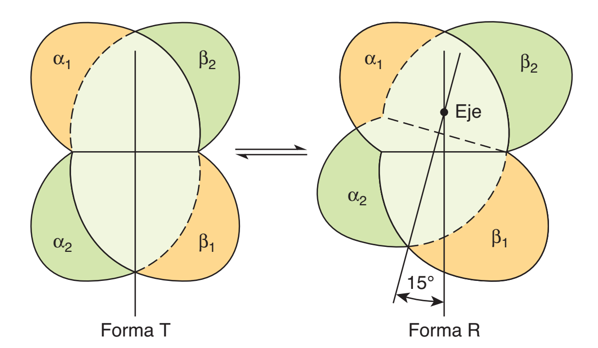


FIGURA 6–9 Durante la transición de la forma T a la forma R de la hemoglobina, el par de subunidades $\alpha_2\beta_2$ (verde) rota por 15° respecto al par de subunidades $\alpha_1\beta_1$ (amarillo). El eje de rotación es excéntrico y el par $\alpha_2\beta_2$ también se desvía un poco hacia el eje. En la representación, el par $\alpha_1\beta_1$ de color marrón claro se muestra fijo, mientras que el par $\alpha_2\beta_2$ de subunidades verde se desvía y rota.

La oxigenación de la hemoglobina se acompaña de grandes cambios de conformación

La unión de la primera molécula de O_2 a la desoxiHb desvía el hierro hem hacia el plano del anillo hem desde una posición alrededor de 0.04 nm más allá del mismo (**figura 6-8**). Este movimiento se transmite a la histidina proximal (F8) y a los residuos unidos a ella lo que, a su vez, causa la rotura de puentes salinos entre los residuos carboxilo terminal de las cuatro subunidades.

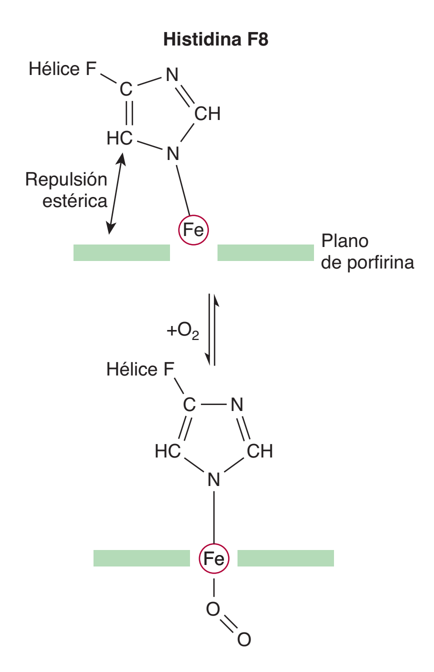


FIGURA 6–8 El átomo de hierro se mueve hacia el plano del hem en el momento de la oxigenación. La histidina F8 y sus residuos asociados son llevados junto con el átomo de hierro. (Modificada y reproducida, con autorización, de Stryer L: *Biochemistry,* 3rd ed. Freeman, 1988. Copyright © 1988 W. H. Freeman and Company.)

Como resultado, un par de subunidades α/β rota 15 grados respecto al otro, lo que compacta el tetrámero (**figura 6-9**). Profundos cambios de las estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria acompañan a la transición de alta afinidad inducida por O_2 de la hemoglobina desde el **estado T (tenso)** de baja afinidad hacia el **estado R (relajado)** de alta afinidad. Estos cambios aumentan de manera importante la afinidad de los grupos hem no oxigenados restantes por el O_2, puesto que los eventos de unión subsiguientes requieren la rotura de menos puentes salinos (**figura 6-10**). Los términos “T” y “R” también se usan para hacer referencia a las conformaciones de afinidad baja y alta de enzimas alostéricas, respectivamente.

Después de liberar O_2 en los tejidos, la hemoglobina transporta CO_2 y protones hacia los pulmones

Además de transportar O_2 desde los pulmones hacia los tejidos periféricos, la hemoglobina transporta CO_2, el subproducto de la respiración, y protones, desde los tejidos periféricos hacia los pulmones. La hemoglobina porta CO_2 como carbamatos formados con los nitrógenos amino terminal de las cadenas polipeptídicas.

$$CO_2 + Hb{-}NH_3^+ \rightleftharpoons 2H^+ + Hb{-}\overset{H}{N}{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}O^-$$

Los carbamatos cambian la carga de terminales amino desde positiva hacia negativa, lo que favorece la formación de puentes salinos entre las cadenas α y β.

Los carbamatos de hemoglobina explican alrededor de 15% del CO_2 en la sangre venosa. Gran parte del CO_2 restante se transporta como bicarbonato, que se forma en los eritrocitos mediante la hidratación de CO_2 hacia ácido carbónico (H_2CO_3), un proceso catalizado por la anhidrasa carbónica. Al pH de la sangre venosa, el H_2CO_3 se disocia hacia bicarbonato y un protón.

$$CO_2 + H_2O \xrightleftharpoons{\text{ANHIDRASA CARBÓNICA}} \underset{\textbf{Ácido carbónico}}{H_2CO_3} \xrightleftharpoons{\textit{(Espontánea)}} HCO_3^- + H^+$$

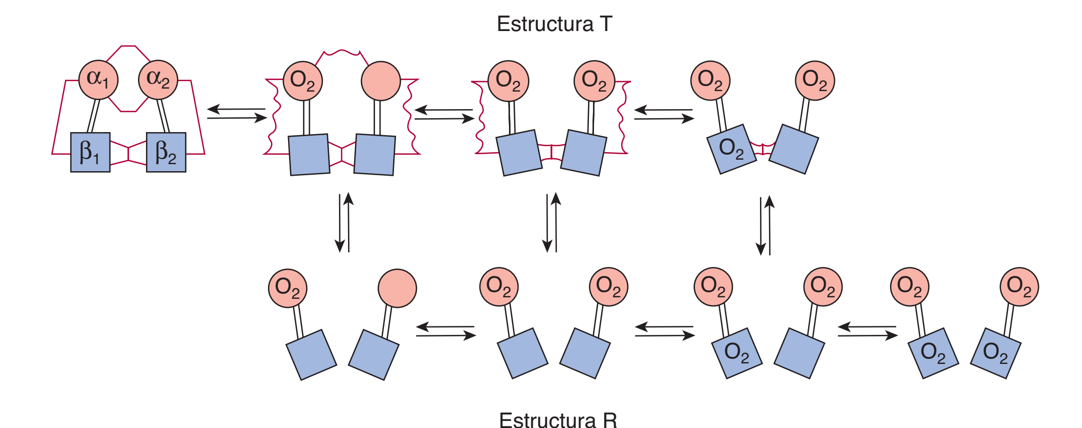


FIGURA 6–10 Transición desde la estructura T hacia la estructura R. En este modelo, los puentes salinos (líneas de color rojo) que enlazan las subunidades en la estructura T se rompen de manera progresiva a medida que se añade oxígeno, e incluso los puentes salinos que todavía no se han roto se debilitan de manera progresiva (líneas de color rojo onduladas). La transición desde T hacia R no tiene lugar después de que un número fijo de moléculas de oxígeno se ha unido, sino que se hace más probable a medida que cada oxígeno sucesivo se une. La transición entre las dos estructuras está influida por protones, dióxido de carbono, cloruro y BPG; mientras más alta es su concentración, debe unirse más oxígeno para desencadenar la transición. Las moléculas por completo oxigenadas en la estructura T, y las moléculas por completo desoxigenadas en la estructura R no se muestran porque son inestables. (Modificada y redibujada, con autorización, de Perutz MF: Hemoglobin structure and respiratory transport. Sci Am [Dec] 1978; 239:92.)

La desoxihemoglobina une un protón por cada dos moléculas de O_2 liberadas, lo que contribuye de manera significativa a la capacidad amortiguadora de la sangre. El pH un poco más bajo de los tejidos periféricos, auxiliado por la reacción de carbamación, estabiliza el estado T y, así, aumenta el aporte de O_2. En los pulmones, el proceso se revierte. A medida que el O_2 se une a la desoxihemoglobina, se liberan protones y se combinan con bicarbonato para formar ácido carbónico. La deshidratación del H_2CO_3, catalizada por la anhidrasa carbónica, forma CO_2, que se exhala. De este modo, la unión de oxígeno impulsa la exhalación de CO_2 (**figura 6-11**). Este acoplamiento recíproco de unión de protón y O_2 se denomina **efecto Bohr**, el cual depende de **interacciones cooperativas entre los hemes del tetrámero de hemoglobina**. La mioglobina, un monómero, no muestra efecto Bohr.

Los protones surgen a partir de la rotura de puentes salinos cuando se une O_2

Los protones de los cuales depende el efecto Bohr surgen a partir de la rotura de puentes salinos durante el enlace de O_2 a la hemoglobina en estado T. La conversión hacia el estado R oxigenado rompe puentes salinos que comprenden el residuo His 146 de la cadena β. La disociación subsiguiente de protones desde His 146 impulsa la conversión de bicarbonato hacia ácido carbónico (figura 6-11). En el momento de la liberación de O_2, vuelven a formarse la estructura T y sus puentes salinos. Este cambio en la conformación aumenta la pK_a de los residuos His 146 de la cadena β, que une protones. Al facilitar que vuelvan a formarse puentes salinos, un aumento de la concentración de protones aumenta la liberación de O_2 desde la hemoglobina oxigenada (estado R). Por el contrario, un aumento de la Po_2 promueve la liberación de protón.

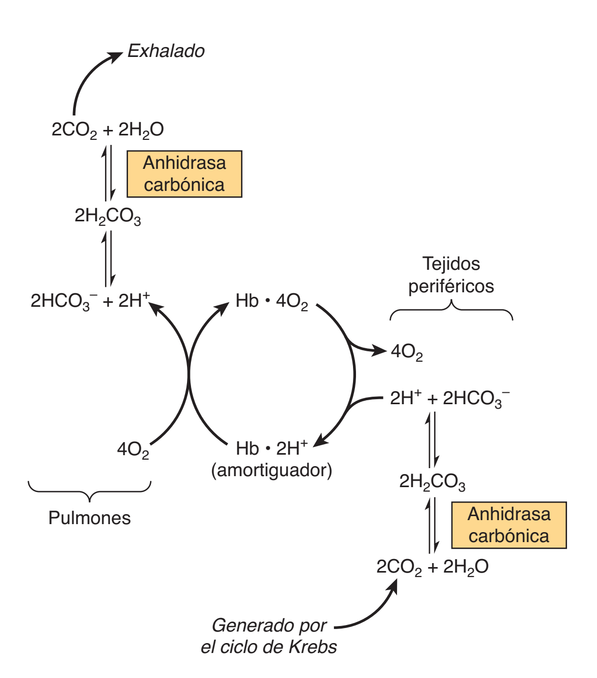


FIGURA 6–11 El efecto Bohr. El dióxido de carbono generado en tejidos periféricos se combina con agua para formar ácido carbónico, el cual se disocia en protones y iones de bicarbonato. La desoxihemoglobina actúa como un amortiguador al unir protones y llevarlos a los pulmones. En estos últimos, la captación de oxígeno por la hemoglobina libera protones que se combinan con el ion bicarbonato; ello forma ácido carbónico, que cuando se deshidrata mediante la anhidrasa carbónica se convierte en dióxido de carbono, que entonces se exhala.

El 2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG) estabiliza la estructura T de la hemoglobina

Una Po_2 baja en los tejidos periféricos promueve la síntesis de 2,3-BPG en eritrocitos a partir del intermediario glucolítico 1,3-BPG.

El tetrámero de hemoglobina une una molécula de BPG en la cavidad central formada por sus cuatro subunidades (figura 6-6). Sin embargo, el espacio entre las hélices H de las cadenas β que revisten la cavidad es lo bastante amplio como para dar cabida a BPG sólo cuando la hemoglobina se encuentra en el estado T. El BPG forma puentes salinos con los grupos amino terminal de ambas cadenas β por medio de Val NA1 y con Lis EF6 e His H21 (**figura 6-12**). Por ende, el BPG estabiliza hemoglobina desoxigenada (estado T) mediante la formación de puentes salinos adicionales que deben romperse antes de la conversión al estado R.

El residuo H21 de la subunidad γ de la HbF es Ser más que His. Dado que Ser no puede formar un puente salino, el BPG se une de manera más débil a la HbF que a la HbA. La baja estabilización proporcionada al estado T por el BPG explica la mayor afinidad de la HbF por el O_2 que la de la HbA.

Adaptación a grandes alturas

Los cambios fisiológicos que acompañan a la exposición prolongada a grandes altitudes incluyen un aumento del número de eritrocitos y de sus concentraciones de hemoglobina y de BPG.

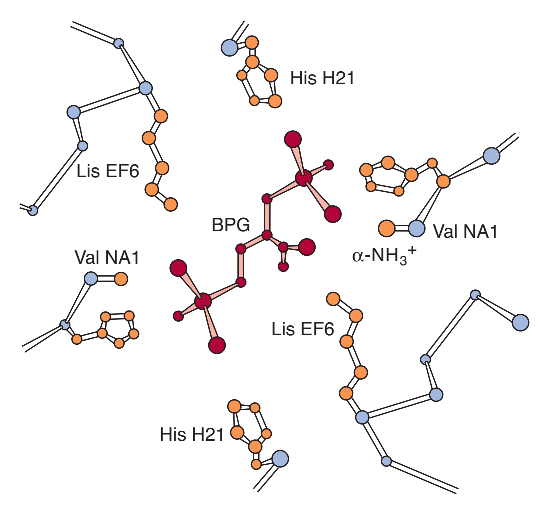


FIGURA 6–12 Modo de unión del 2,3-bisfosfoglicerato (BPG) a la desoxihemoglobina humana. El BPG interactúa con tres grupos que tienen carga positiva sobre cada cadena β. (Basada en Arnone A: X-ray diffraction study of binding of 2,3-diphosphoglycerate to human deoxyhemoglobin. Nature 1972;237:146. Copyright © 1972. Adaptada con autorización de Macmillan Publishers Ltd.)

El BPG alto disminuye la afinidad de la HbA por el O_2 (aumenta la P_{50}), lo que incrementa la liberación de O_2 en los tejidos.

SE HAN IDENTIFICADO MUCHAS MUTACIONES QUE AFECTAN LAS HEMOGLOBINAS HUMANAS

Las mutaciones en los genes que codifican para las subunidades α o β de la hemoglobina tienen el potencial de afectar su función biológica. Sin embargo, casi todas las más de 1 100 mutaciones genéticas conocidas que afectan las hemoglobinas del ser humano son en extremo raras y benignas; además de que no suscitan anormalidades clínicas. Cuando una mutación compromete la función biológica, el estado recibe el nombre de **hemoglobinopatía**. Se estima que más de 7% de la población mundial es portadora de trastornos de la hemoglobina. En el URL http://globin.cse.psu.edu/ (Globin Gene Server) se proporciona información acerca de hemoglobinas normales y mutantes, y enlaces para las mismas. A continuación se describen ejemplos seleccionados.

Metahemoglobina y hemoglobina M

En la metahemoglobinemia, el hierro hem es férrico en lugar de ferroso, así que la metahemoglobina no puede unirse a O_2 ni transportarlo. En circunstancias normales, la enzima metahemoglobina reductasa reduce el Fe^{3+} de la metahemoglobina hacia Fe^{2+}. La metahemoglobina puede aumentar por oxidación del Fe^{2+} a Fe^{3+} como un efecto secundario de agentes como sulfonamidas, por hemoglobina M hereditaria, o como consecuencia de actividad reducida de la enzima metahemoglobina reductasa.

En la hemoglobina M, la histidina F8 (His F8) ha quedado remplazada por la tirosina. El hierro de la HbM forma un complejo iónico apretado con el anión fenolato de la tirosina que estabiliza la forma Fe^{3+}. En las variantes M de la cadena α de hemoglobina, el equilibrio de R-T favorece el estado T. La afinidad por el oxígeno está reducida y no hay efecto Bohr. Las variantes M de la cadena β de hemoglobina muestran conmutación R-T y, por ende, hay efecto Bohr.

Las mutaciones que favorecen el estado R (p. ej., hemoglobina Chesapeake) aumentan la afinidad por el O_2, de modo que estas hemoglobinas no suministran O_2 adecuado a los tejidos periféricos. La hipoxia hística resultante lleva a **policitemia**, una concentración aumentada de eritrocitos.

Hemoglobina S

En la HbS, el aminoácido no polar valina ha remplazado al residuo de superficie polar Glu6 de la subunidad β, lo que genera un **"parche pegajoso"** ("*sticky patch*") hidrofóbico sobre la superficie de la subunidad β tanto de la oxiHbS como de la desoxiHbS. Tanto la HbA como la HbS contienen un "parche pegajoso" complementario sobre sus superficies, que sólo queda expuesto en el estado T desoxigenado. De este modo, a Po_2 baja, la desoxiHbS puede polimerizarse para formar fibras insolubles largas. La unión de la desoxiHbA termina la polimerización de fibra, puesto que la HbA carece del segundo parche pegajoso necesario para unir otra molécula de Hb (**figura 6-13**). Estas fibras helicoidales torcidas producen una deformación falciforme

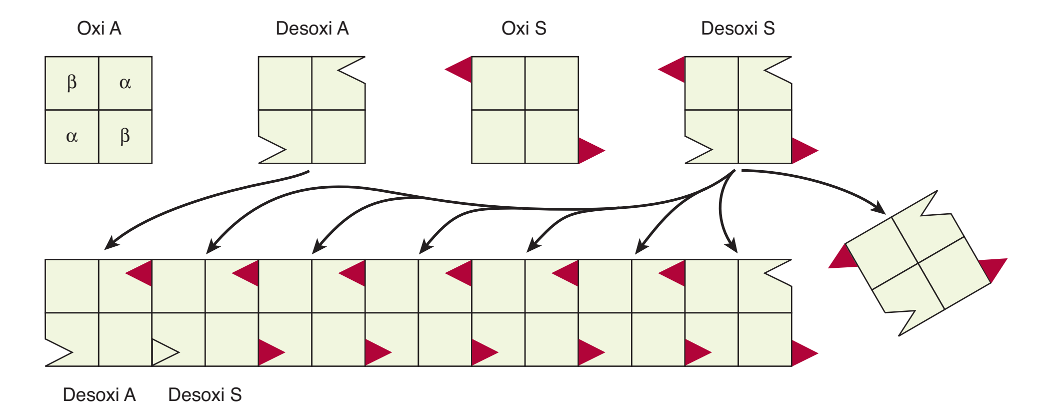


FIGURA 6–13 Representación del parche pegajoso (▲) en la hemoglobina S y su "receptor" (Δ) en la desoxihemoglobina A y la desoxihemoglobina S. Las superficies complementarias permiten que la desoxihemoglobina S se polimerice hacia una estructura fibrosa, pero la presencia de desoxihemoglobina A terminará la polimerización al no proporcionar parches pegajosos. (Modificada y reproducida, con autorización, de Stryer L: *Biochemistry,* 3rd ed. Freeman, 1988. Copyright © 1988 W. H. Freeman and Company.)

característica del eritrocito, lo que le hace vulnerable a lisis en los intersticios de los sinusoides esplénicos. También causan múltiples efectos clínicos secundarios. Una Po_2 baja, como la que ocurre a grandes altitudes, exacerba la tendencia a polimerizarse. Los tratamientos que están surgiendo para drepanocitosis comprenden inducir la expresión de HbF para inhibir la polimerización de HbS, trasplante de células madre y, en el futuro, terapia génica.

INFERENCIAS BIOMÉDICAS

Mioglobinuria

Después de lesión por aplastamiento masivo, la mioglobina liberada a partir de fibras musculares dañadas tiñe la orina de color rojo oscuro. Es posible detectar mioglobina en plasma después de un infarto al miocardio, pero la valoración de enzimas séricas (cap. 7) proporciona un índice más sensible de lesión miocárdica.

Anemias

Son reducciones del número de eritrocitos o de la hemoglobina en sangre y en ocasiones reflejan síntesis alterada de hemoglobina (p. ej., en la deficiencia de hierro; cap. 50) o producción alterada de eritrocitos (p. ej., en la deficiencia de ácido fólico o de vitamina B_{12}; cap. 44). El diagnóstico de anemias empieza con la medición espectroscópica de las concentraciones sanguíneas de hemoglobina.

Talasemias

Son defectos genéticos que se producen por la falta parcial o total de una o más cadenas α o β de la hemoglobina. Se han identificado más de 750 mutaciones diferentes, pero sólo tres son comunes. Es posible que ocurra afección de la cadena α (talasemia α) o la cadena β (talasemia β). Un número en superíndice indica si una subunidad falta por completo (α^0 o β^0) o si su síntesis está reducida (α^- o β^-). Salvo por el trasplante de médula ósea, el tratamiento es sintomático.

Ciertas hemoglobinas mutantes se observan con frecuencia en muchas poblaciones, y un sujeto puede heredar más de un tipo. De este modo, los trastornos de la hemoglobina presentan un modelo complejo de fenotipos clínicos. El uso de sondas de DNA para su diagnóstico se considera en el capítulo 39.

Hemoglobina glucosilada (HbA_{1c})

Cuando la glucosa sanguínea entra a los eritrocitos, produce glucosilación (glicación) del grupo ε-amino de residuos lisina y los amino terminales de la hemoglobina. La fracción de hemoglobina glucosilada, que por lo normal se ubica alrededor de 5%, es proporcional a la concentración de glucosa en la sangre. Dado que la vida media de un eritrocito es de unos 60 días, la concentración de HbA_{1c} refleja la concentración media de glucosa en sangre durante las seis a ocho semanas precedentes, de modo que la medición de HbA_{1c} proporciona valiosa información para el manejo de la diabetes mellitus.

RESUMEN

- La mioglobina es monomérica; la hemoglobina es un tetrámero formado por dos tipos de subunidades ($\alpha_2\beta_2$ en la HbA). Pese a tener estructuras primarias diferentes, la mioglobina y las subunidades de la hemoglobina tienen estructuras secundaria y terciaria casi idénticas.
- El hem, un tetrapirrol cíclico, un poco plegado, en esencia planar, tiene un Fe^{2+} central enlazado a los cuatro átomos de nitrógeno del hem, a la histidina F8 y, en la oxiMb y la oxiHb, también a O_2.
- La curva de unión a O_2 para la mioglobina es hiperbólica, pero para la hemoglobina es sigmoidea, una consecuencia de interacciones cooperativas en el tetrámero. La cooperatividad maximiza la capacidad de la hemoglobina tanto para cargar O_2 a la Po_2 de los pulmones, como para liberar O_2 a la Po_2 de los tejidos.
- Las afinidades relativas de diferentes hemoglobinas por el oxígeno se expresan como P_{50}, la Po_2 que las satura 50% con O_2. Las hemoglobinas se saturan a las presiones parciales de su órgano respiratorio respectivo, p. ej., el pulmón o la placenta.

- En el momento de la oxigenación de la hemoglobina, el hierro, la histidina F8 y residuos enlazados se mueven hacia el anillo hem. Los cambios de la conformación que acompañan a la oxigenación comprenden rotura de enlaces salinos y aflojamiento de la estructura cuaternaria, lo que facilita la unión de O_2 adicional.
- El 2,3-bisfosfoglicerato (BPG) en la cavidad central de la desoxiHb forma enlaces salinos con las subunidades β que estabilizan a la desoxiHb. En el momento de la oxigenación, la cavidad central se contrae, hay extrusión de BPG y la estructura cuaternaria se relaja.
- La hemoglobina también funciona en el transporte de CO_2 y de protones desde los tejidos hacia los pulmones. La liberación de O_2 desde la oxiHb en los tejidos se acompaña de captación de protones debido a disminución de la pK_a de residuos histidina.
- En la hemoglobina de células falciformes (HbS), la Val remplaza a la Glu β6 de la HbA, lo que crea un "parche pegajoso" que tiene un complemento sobre la desoxiHb (no así sobre la oxiHb). La desoxiHbS se polimeriza a concentraciones de O_2 bajas, lo que forma fibras que producen deformación falciforme de los eritrocitos.
- Las talasemias α y β son anemias que sobrevienen por producción reducida de subunidades α y β de la HbA, respectivamente.

REFERENCIAS

Frauenfelder H, McMahon BH, Fenimore PW: Myoglobin: The hydrogen atom of biology and a paradigm of complexity. Proc Natl Acad Sci USA 2003;100:8615.

Hardison RC, Chui DH, Riemer C, et al: Databases of human hemoglobin variants and other resources at the globin gene server. Hemoglobin 2001;25:183.

Lukin JA, Ho C: The structure–function relationship of hemoglobin in solution at atomic resolution. Chem Rev 2004;104:1219.

Ordway GA, Garry DJ: Myoglobin: An essential hemoprotein in striated muscle. J Exp Biol 2004;207:3441.

Papanikolaou E, Anagnou NP: Major challenges for gene therapy of thalassemia and sickle cell disease. Curr Gene Ther 2010;10:404.

Schrier SL, Angelucci E: New strategies in the treatment of the thalassemias. Annu Rev Med 2005;56:157.

Steinberg MH, Brugnara C: Pathophysiological-based approaches to treatment of sickle-cell disease. Annu Rev Med 2003;54:89.

Umbreit J: Methemoglobin—it's not just blue: A concise review. Am J Hematol 207;82:134.

Weatherall DJ, Akinyanju O, Fucharoen S, et al: Inherited disorders of hemoglobin. In: *Disease Control Priorities in Developing Countries,* Jamison DT, Breman JG, Measham AR (editors). Oxford University Press and the World Bank, 2006;663–680.

Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR, et al: The hemoglobinopathies. In: *The Metabolic Basis of Inherited Disease,* 8th ed. Scriver CR, Sly WS, Childs B, et al (editors). McGraw-Hill, 2000;4571.

Weatherall DJ, Clegg JD: *The Thalassemia Syndromes.* Blackwell Science, 2001.

Yonetani T, Laberge M: Protein dynamics explain the allosteric behaviors of hemoglobin. Biochim Biophys Acta 2008; 1784:1146.

CAPÍTULO

7

Enzimas: mecanismo de acción

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Ilustrar las relaciones estructurales entre las vitaminas B y coenzimas.
- Esbozar los cuatro mecanismos principales mediante los cuales las enzimas logran catálisis.
- Describir cómo un "ajuste inducido" facilita el reconocimiento de sustrato y la catálisis.
- Esbozar los principios subyacentes de inmunoensayos ligados a enzima.
- Explicar cómo el acoplamiento de una enzima a una deshidrogenasa dependiente de $NAD(P)^+$ puede simplificar el análisis de su actividad.
- Identificar enzimas y proteínas cuyas concentraciones plasmáticas se usan para el diagnóstico de un infarto de miocardio y el establecimiento del pronóstico del mismo.
- Describir la aplicación de endonucleasas de restricción y de polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción en la detección de enfermedades genéticas.
- Explicar la utilidad de la mutagénesis dirigida hacia sitio para la identificación de residuos involucrados en la catálisis, en el reconocimiento de sustratos o efectores alostéricos, o en el mecanismo de acción enzimática.
- Describir cómo la adición de "marcas" de afinidad fusionadas por medio de tecnología de DNA recombinante puede facilitar la purificación de una proteína expresada a partir de su gen clonado.
- Indicar la función de proteasas específicas en la purificación de enzimas marcadas por afinidad.
- Discutir los eventos que llevaron al descubrimiento de que los RNA pueden actuar como enzimas.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las enzimas son polímeros biológicos que catalizan las reacciones químicas que hacen posible la vida tal como la conocemos. La presencia y el mantenimiento de un conjunto completo y equilibrado de enzimas son esenciales para la desintegración de nutrientes a fin de que proporcionen energía y bloques de construcción químicos; el montaje de esos bloques de construcción hacia proteínas, DNA, membranas, células y tejidos, y la utilización de energía para impulsar la motilidad celular, la función neural y la contracción muscular. Casi todas las enzimas son proteínas. Las excepciones notables comprenden **RNA ribosomales** y un puñado de moléculas de RNA que se dividen por sí mismas o se empalman por sí mismas, conocidas en conjunto como **ribozimas**. La capacidad para valorar la actividad de enzimas específicas en la sangre, otros líquidos hísticos, o extractos celulares, ayuda en el diagnóstico y el pronóstico de enfermedad. Las deficiencias de la cantidad o la actividad catalítica de enzimas clave pueden sobrevenir por defectos genéticos, déficit nutricionales o toxinas. Las enzimas defectuosas pueden producirse por mutaciones genéticas o infección por virus o bacterias patógenos (p. ej., *Vibrio cholerae*). Los científicos médicos abordan desequilibrios de la actividad de enzimas al utilizar fármacos para inhibir enzimas específicas, y están investigando la terapia génica como un medio para corregir déficit de la concentración de enzimas o la función de las mismas.

Además de servir como los catalizadores para todos los procesos metabólicos, su impresionante actividad catalítica, especificidad para sustrato y estereoespecificidad permiten a las enzimas desempeñar funciones clave en otros procesos relacionados con la salud y el bienestar de seres humanos. La estereoespecificidad absoluta de enzimas es en particular valiosa para uso

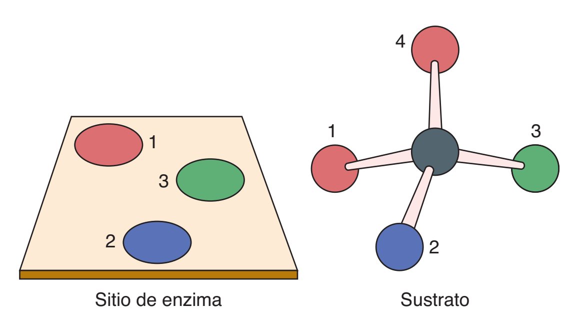


FIGURA 7–1 Representación planar de la "fijación de tres puntos" de un sustrato al sitio activo de una enzima. Aunque los átomos 1 y 4 son idénticos, una vez que los átomos 2 y 3 se unen a sus sitios complementarios en la enzima, sólo el átomo 1 puede unirse. De este modo, una vez unidos a una enzima, átomos al parecer idénticos pueden ser distinguibles, lo que permite un cambio químico estereoespecífico.

como catalizadores solubles o inmovilizados para reacciones específicas en la síntesis de un fármaco o antibiótico. Las proteasas y amilasas aumentan la capacidad de los detergentes para eliminar suciedad y colorantes. Las enzimas tienen importancia en la producción de productos alimenticios o el aumento del valor nutriente de los mismos tanto para seres humanos como para animales. Por ejemplo, la proteasa quimosina (renina) se utiliza en la producción de quesos, mientras que la lactasa es empleada para eliminar lactosa de la leche y beneficiar a quienes sufren intolerancia a la lactosa por deficiencia de esta enzima hidrolítica (cap. 43).

LAS ENZIMAS SON CATALIZADORES EFICACES Y MUY ESPECÍFICOS

Las enzimas que catalizan la conversión de uno o más compuestos **(sustratos)** hacia uno o más compuestos diferentes **(productos)** aumentan los índices de la reacción no catalizada correspondiente por factores de al menos 10^6. Al igual que todos los catalizadores, las enzimas no se consumen ni se alteran de manera permanente como consecuencia de su participación en una reacción.

Además de ser muy eficientes, las enzimas también son catalizadores en extremo selectivos. Al contrario de casi todos los catalizadores usados en química sintética, las enzimas son específicas tanto para el tipo de reacción catalizada como para un sustrato único o un pequeño conjunto de sustratos estrechamente relacionados. Las enzimas también son catalizadores estereoespecíficos y de manera típica catalizan reacciones de sólo un estereoisómero de un compuesto dado (p. ej., azúcares D, mas no L; aminoácidos de L pero no D). Dado que se unen a sustratos por medio de al menos "tres puntos de fijación", las enzimas incluso pueden convertir sustratos no quirales en productos quirales. En la **figura 7-1** se ilustra por qué la reducción catalizada por enzima del sustrato no quiral piruvato produce sólo L-lactato (en lugar de una mezcla racémica de D- y L-lactato). La especificidad extrema de los catalíticos enzima confiere a las células vivas la capacidad para conducir de manera simultánea y controlar de modo independiente una amplia gama de procesos químicos.

LAS ENZIMAS SE CLASIFICAN POR EL TIPO DE REACCIÓN

Los nombres de uso frecuente para casi todas las enzimas describen el tipo de reacción catalizada, seguido por el sufijo *-asa*. Así, por ejemplo, las deshidrogen*asas* eliminan átomos de hidrógeno, las prote*asas* hidrolizan proteínas y las isomer*asas* catalizan reordenamientos de la configuración. Los modificadores pueden preceder o seguir al nombre para indicar el sustrato (*xantina* oxidasa), la fuente de la enzima (ribonucleasa *pancreática*), su regulación (lipasa *sensible a hormona*) o una característica de su mecanismo de acción (*cisteína* proteasa). Cuando es necesario, se añaden designaciones alfanuméricas para identificar múltiples formas de una enzima (p. ej., RNA polimerasa *III*; proteína cinasa Cβ).

A fin de resolver estas dificultades, la *International Union of Biochemists* (IUB) creó un sistema de nomenclatura de enzimas sin ambigüedad en el cual cada enzima tiene un nombre y número de código singular que identifican el tipo de reacción catalizada y los sustratos comprendidos; así, las enzimas se agrupan en seis clases:

1. **Oxidorreductasas:** catalizan oxidaciones y reducciones.
2. **Transferasas:** catalizan la transferencia de porciones, como grupos glucosilo, metilo o fosforilo.
3. **Hidrolasas:** catalizan la división *hidrolítica* de C—C, C—O, C—N y otros enlaces covalentes.
4. **Liasas:** catalizan la división de C—C, C—O, C—N y otros enlaces covalentes mediante *eliminación de átomo*, dejando dobles enlaces.
5. **Isomerasas:** catalizan cambios geométricos o estructurales *dentro* de una molécula.
6. **Ligasas:** catalizan la unión de dos moléculas en reacciones acopladas a la hidrólisis de ATP.

A pesar de la claridad del sistema de la IUB, los nombres son largos y hasta cierto punto engorrosos, de modo que en general se sigue haciendo referencia a las enzimas por su nombre tradicional, aunque a veces ambiguo. La designación de la IUB para la hexocinasa ilustra tanto la claridad de su sistema como sus complejidades: el nombre que la IUB da a la hexocinasa es ATP:D-hexosa-6-fosfotransferasa E.C.2.7.1.1, el cual identifica a la hexocinasa como un miembro de la clase 2 (transferasas), subclase 7 (transferencia de un grupo fosforilo), subclase 1 (el alcohol es el aceptor del fosforilo), y "hexosa-6" indica que el alcohol fosforilado está en el carbono seis de una hexosa; sin embargo, se le sigue llamando hexocinasa.

LOS GRUPOS PROSTÉTICOS, LOS COFACTORES Y LAS COENZIMAS TIENEN FUNCIONES IMPORTANTES EN LA CATÁLISIS

Muchas enzimas contienen pequeñas moléculas no proteínicas y iones metálicos que participan de manera directa en la unión de sustrato o en la catálisis. Denominados **grupos prostéticos**, **cofactores** y **coenzimas**, éstos extienden el repertorio de capacidades catalíticas más allá de las proporcionadas por el número

limitado de grupos funcionales presentes en las cadenas laterales aminoacilo de péptidos.

Los grupos prostéticos están estrechamente integrados en la estructura de una enzima

Los grupos prostéticos se distinguen por su incorporación estrecha y estable hacia la estructura de una proteína mediante fuerzas covalentes o no covalentes. Los ejemplos son fosfato de piridoxal, flavina mononucleótido (FMN), flavina adenina dinucleótido (FAD), pirofosfato de tiamina, biotina y los iones metálicos de Co, Cu, Mg, Mn y Zn. Los metales son los grupos prostéticos más comunes. Cerca de un tercio de todas las enzimas que contienen iones metálicos unidos de manera estrecha se llama **metaloenzimas**. Los iones metálicos que participan en reacciones redox por lo general forman complejos con grupos prostéticos como el hem (cap. 6) o agrupaciones de hierro-azufre (cap. 12). Los metales también pueden facilitar la unión y orientación de sustratos, la formación de enlaces covalentes con intermediarios de reacción (Co^{2+} en la coenzima B_{12}), o al actuar como ácidos de Lewis o bases para hacer los sustratos más **electrofílicos** (con pocos electrones) o **nucleofílicos** (ricos en electrones) y, por tanto, más reactivos.

Los cofactores se asocian de manera reversible con enzimas o sustratos

Los **cofactores** desempeñan funciones similares a las de grupos prostéticos, pero se unen de una manera transitoria y disociable a la enzima o a un sustrato como ATP. Por ende, al contrario de los grupos prostéticos asociados de manera estable, para que ocurra catálisis debe haber cofactores en el medio que rodea a la enzima. Los cofactores más comunes también son iones metálicos. Las enzimas que requieren un cofactor ion metálico se llaman **enzimas activadas por metal** para distinguirlas de las **metaloenzimas** para las cuales los iones metálicos sirven como grupos prostéticos.

Las coenzimas sirven como transbordadores de sustrato

Las **coenzimas** sirven como transbordadores —o agentes de transferencia de grupo— reciclables que transportan muchos sustratos desde un punto dentro de la célula hacia otro. Estos transbordadores tienen dos funciones. En primer lugar, estabilizan especies como átomos de hidrógeno (FADH) o iones hidruro (NADH) que son demasiado reactivos como para persistir durante cualquier periodo importante en la presencia de agua y moléculas orgánicas que penetran al interior de la célula. También sirven como un adaptador o mango que facilita el reconocimiento y la unión de grupos químicos pequeños, como acetato (coenzima A), por sus enzimas blanco. Otras porciones químicas transportadas por coenzimas comprenden grupos metilo (folatos) y oligosacáridos (dolicol).

FIGURA 7–2 **Estructura del NAD^+ y $NADP^+$.** Para NAD^+, R = H; para $NADP^+$, $R = PO_3^{2-}$.

Muchas coenzimas, cofactores y grupos prostéticos son derivados de vitamina B

Las vitaminas B hidrosolubles proporcionan componentes importantes de muchas coenzimas. Varias coenzimas contienen, además, las porciones adenina, ribosa y fosforilo de monofosfato de adenosina (AMP) o difosfato de adenosina (ADP) (**figura 7-2**). La **nicotinamida** es un componente de las coenzimas redox dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD) y nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP), mientras que la **riboflavina** es un componente de las coenzimas redox FMN y FAD. El **ácido pantoténico** es un componente de la **coenzima A** acarreadora de grupo acilo. Como su pirofosfato, la **tiamina** participa en la descarboxilación de cetoácidos α, y las coenzimas **ácido fólico** y **cobamida** funcionan en el metabolismo de un carbono.

LA CATÁLISIS OCURRE EN EL SITIO ACTIVO

Una importante información de principios del siglo XX acerca de la catálisis enzimática provino de la observación de que la presencia de sustratos hace a las enzimas más resistentes a los efectos desnaturalizantes de las temperaturas altas. Dicha observación llevó a Emil Fischer a proponer que las enzimas y sus sustratos interactúan para formar un complejo de enzima-sustrato (ES) cuya estabilidad térmica fue mayor que la de la enzima en sí. Este conocimiento impactó de manera profunda sobre la comprensión tanto de la naturaleza química como de la conducta cinética (cap. 8) de la catálisis enzimática.

Fischer razonó que la especificidad en extremo alta con la cual las enzimas distinguen sus sustratos cuando están formando un complejo de ES era análoga a la manera en la cual una cerradura mecánica distingue la llave apropiada. En casi todas las enzimas, la "cerradura" está formada por una hendidura o

FIGURA 7–3 Representación bidimensional de un sustrato dipéptido, glicil-tirosina, unido dentro del sitio activo de la carboxipeptidasa A.

una bolsa en la superficie de la proteína que forma parte de una región llamada el **sitio activo** (figuras 5-6 y 5-8). Como lo indica el adjetivo "activo", el sitio activo es mucho más que simplemente un sitio de reconocimiento para la unión de sustratos. Dentro del sitio activo, los sustratos son acercados estrechamente uno a otro en la alineación óptima con los cofactores, grupos prostéticos y cadenas laterales de aminoácidos que se encargan de catalizar su transformación química en productos (**figura 7-3**). La catálisis es aumentada más por la capacidad del sitio activo para proteger sustratos contra agua y generar un ambiente cuya polaridad, hidrofobicidad, acidez o alcalinidad puede diferir de manera notoria de la que hay en el citoplasma circundante.

LAS ENZIMAS EMPLEAN MÚLTIPLES MECANISMOS PARA FACILITAR LA CATÁLISIS

Las enzimas usan diversas combinaciones de cuatro mecanismos generales para lograr notorio aumento catalítico de los índices de reacciones químicas.

Catálisis por proximidad

Para que las moléculas reaccionen, deben acercarse hasta ubicarse dentro de la distancia formadora de enlace de otra. Mientras más alta sea su concentración, con mayor frecuencia se encontrarán una con otra y mayor será el índice de su reacción. Cuando una enzima se une a moléculas de sustrato en su sitio activo, crea una región de concentración local alta de sustrato. Este ambiente también orienta las moléculas de sustrato de manera espacial en una posición ideal para que interactúen, lo que origina aumentos del índice de al menos mil veces.

Catálisis acidobásica

Los grupos funcionales ionizables de cadenas laterales aminoacilo y (cuando están presentes) de grupos prostéticos, contribuyen a la catálisis al interactuar como ácidos o bases. La catálisis acidobásica puede ser específica o general; por "específica" se alude a protones (H_3O^+) o iones OH^-. En la **catálisis específica para ácido** o **específica para base**, el índice de reacción es sensible a cambios de la concentración de protones, pero *independiente* de las concentraciones de otros ácidos (donadores de protón) o bases (aceptores de protón) presentes en solución o en el sitio activo. Se dice que las reacciones cuyos índices muestran capacidad de respuesta a *todos* los ácidos o bases presentes, están sujetas a **catálisis por ácido general** o por **base general**.

Catálisis por tensión

Las enzimas que catalizan reacciones *-líticas* que comprenden la rotura de un enlace covalente típicamente se unen a sus sustratos en una conformación muy desfavorable para el enlace que sufrirá la división. Tal conformación imita la del **intermediario de estado de transición**, especie transitoria que representa la transición o el punto medio en la transformación de sustratos en productos. La tensión resultante estira o deforma el enlace al cual se dirige; esto lo debilita y lo hace más vulnerable a división. Linus Pauling, laureado con el premio Nobel, fue el primero en sugerir una función para la estabilización de estado de transición como un mecanismo general mediante el cual las enzimas aceleran los índices de reacciones químicas. Los químicos a menudo aprovechan el conocimiento del estado de transición de una reacción catalizada por enzima para diseñar y crear inhibidores de enzima más eficaces, llamados **análogos de estado de transición**, como farmacóforos potenciales.

Catálisis covalente

El proceso de **catálisis covalente** comprende la formación de un enlace covalente entre la enzima y uno o más sustratos. La enzima modificada después se convierte en un reactivo. La catálisis covalente introduce una nueva vía de reacción cuya energía de activación es más baja —y, por ende, es más rápida— que la vía de reacción en solución homogénea. Sin embargo, la modificación química de la enzima es transitoria; en el momento en que se completa la reacción, la enzima vuelve a su estado no modificado original. De este modo, su función permanece catalítica. La catálisis covalente se observa con particular frecuencia entre enzimas que catalizan reacciones de transferencia de grupo. Los residuos sobre la enzima que participa en la catálisis covalente por lo general son cisteína o serina y, en ocasiones, histidina. La catálisis covalente a menudo sigue un mecanismo de "ping-pong": uno en donde el primer sustrato es unido y su producto se libera antes de la unión del segundo sustrato (**figura 7-4**).

FIGURA 7–4 Mecanismo de "ping-pong" para transaminación. E—CHO y E—CH_2NH_2 representan los complejos de enzima-piridoxal fosfato y enzima-piridoxamina, respectivamente. (Ala, alanina; Glu, glutamato; Pir, piruvato; CG, α-cetoglutarato.)

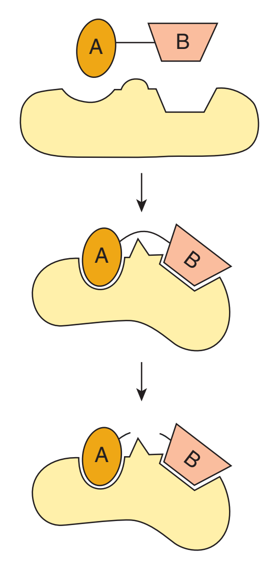


FIGURA 7–5 Representación bidimensional del modelo de adaptación inducida de Koshland, del sitio activo de una liasa. La unión del sustrato A—B induce cambios conformacionales en la enzima que alinea residuos catalíticos que participan en la catálisis y tensa el enlace entre A y B, lo que facilita su división.

FIGURA 7–6 Mecanismo para catálisis mediante una aspártico proteasa como la proteasa de HIV. Las flechas curvas indican direcciones de movimiento de electrón. ① Aspartato X actúa como una base para activar una molécula de agua al sustraer un protón. ② La molécula de agua activada ataca el enlace peptídico, lo que forma un intermediario tetraédrico transitorio. ③ El aspartato Y actúa como un ácido para facilitar el rompimiento del intermediario tetraédrico y la liberación de los productos de división al donar un protón al grupo amino recién formado. El transbordo subsiguiente del protón sobre Asp X a Asp Y restituye la proteasa a su estado inicial.

LOS SUSTRATOS INDUCEN CAMBIOS CONFORMACIONALES EN ENZIMAS

Si bien el "modelo de cerradura y llave" de Fischer permitió comprender la especificidad extrema de interacciones entre enzima y sustrato, la rigidez implícita del sitio activo de la enzima no explicó los cambios dinámicos que acompañan a la catálisis. Esta desventaja fue abordada por el modelo de **adaptación inducida** de Daniel Koshland, que declara que cuando los sustratos se aproximan y se unen a una enzima, inducen un cambio conformacional, una modificación análoga a colocar una mano (sustrato) dentro de un guante (enzima) (**figura 7-5**). Un corolario es que la enzima induce cambios recíprocos en sus sustratos y aprovecha la energía de unión para facilitar la transformación de sustratos en productos. El modelo de adaptación inducida se ha confirmado de manera amplia por medio de estudios biofísicos de movimiento de enzimas durante unión a sustrato.

LA PROTEASA DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (HIV) ILUSTRA LA CATÁLISIS ACIDOBÁSICA

Las enzimas de la **familia de la proteasa aspártica**, que incluye la enzima digestiva pepsina, las catepsinas lisosómicas y la proteasa producida por el HIV, comparten un mecanismo catalítico común. La catálisis comprende dos residuos aspartilo conservados, que actúan como catalíticos acidobásicos. En la primera etapa de la reacción, un aspartato que está funcionando como una base general (Asp X, **figura 7-6**) extrae un protón de una molécula de agua, lo que la hace más nucleofílica. El nucleófilo resultante después ataca al carbono carbonilo electrofílico del enlace peptídico establecido como objetivo para hidrólisis, lo que forma un **intermediario de estado de transición tetraédrico**. A continuación, un segundo aspartato (Asp Y, figura 7-6) facilita la descomposición de este intermediario tetraédrico al donar un protón al grupo amino producido por la rotura del enlace peptídico. Los dos diferentes aspartatos de sitio activo pueden actuar de manera simultánea como una base general o como un ácido general porque su ambiente inmediato favorece la ionización de uno, no así del otro.

LA QUIMOTRIPSINA Y LA FRUCTOSA-2,6-BISFOSFATASA ILUSTRAN LA CATÁLISIS COVALENTE

Quimotripsina

Si bien la catálisis por proteasas aspárticas involucra el ataque hidrolítico directo de agua sobre un enlace peptídico, la catálisis por la **serina proteasa** quimotripsina comprende la formación previa de un intermediario de enzima acilo covalente. Un residuo serilo muy reactivo, la serina 195, participa en una red de transmisión de carga con histidina 57 y aspartato 102. Muy separados en la estructura primaria, en el sitio activo de la proteína madura, estos residuos están dentro de la distancia formadora de enlace de otro. Alineados en el orden Asp 102-His 57-Ser 195, constituyen una **"red de transmisión de carga"** que funciona como un **"transbordador de protón"**.

La unión de sustrato inicia desviaciones de protón que, en efecto, transfieren el protón hidroxilo de Ser 195 a Asp 102 (**figura 7-7**). La nucleofilicidad aumentada del oxígeno serilo facilita su ataque sobre el carbono carbonilo del enlace peptídico del sustrato, lo que forma un intermediario de **acilo-enzima covalente**. El protón en Asp 102 a continuación se transborda a través de His 57 hacia el grupo amino que es liberado cuando el enlace peptídico se divide. La porción del péptido original con un grupo amino libre después deja el sitio activo y es remplazada por una molécula de agua. La red de transmisión de carga ahora activa la molécula de agua al extraer un protón a través de His 57 hacia Asp 102. El ion hidróxido resultante ataca el intermediario acilo-enzima y un transbordador de protón inverso regresa un protón a Ser 195, lo que restituye su estado original. Si bien se modifica durante el proceso de catálisis, la quimotripsina surge sin cambios en el momento en que se completa la reacción. Las proteasas tripsina y elastasa emplean un mecanismo catalítico similar, pero los números de los residuos en sus transbordadores de protón Ser-His-Asp difieren.

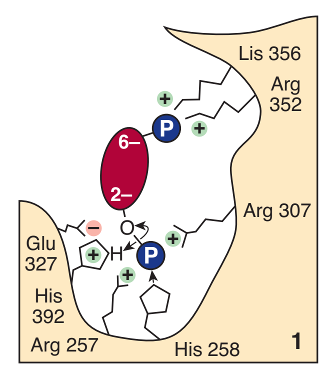
Fructosa-2,6-bisfosfatasa

Es una enzima reguladora de la gluconeogénesis (cap. 20) y cataliza la liberación hidrolítica del fosfato en el carbono 2 de la fructosa-2,6-bisfosfato. En la **figura 7-8** se ilustran las funciones de siete residuos de sitio activo. La catálisis comprende una "tríada catalítica" de un residuo Glu y dos residuos His, y un intermediario fosfohistidilo covalente.

FIGURA 7–7 Catálisis mediante quimotripsina. ① El sistema de transmisión de carga elimina un protón de Ser 195, lo que la hace un nucleófilo más potente. ② La Ser 195 activada ataca el enlace peptídico y forma un intermediario tetraédrico transitorio. ③ La liberación del péptido amino terminal se facilita por donación de un protón al grupo amino recién formado por His 57 del sistema de transmisión de carga, lo que da un intermediario acilo-Ser 195. ④ His 57 y Asp 102 colaboran para activar una molécula de agua, que ataca el acilo-Ser 195, lo que forma un segundo intermediario tetraédrico. ⑤ El sistema de transmisión de carga dona un protón a Ser 195, lo que facilita el rompimiento de intermediario tetraédrico para liberar el péptido carboxilo terminal ⑥.

LOS RESIDUOS CATALÍTICOS ESTÁN MUY CONSERVADOS

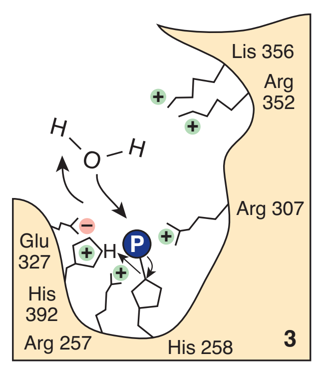
Los miembros de una familia de enzimas como las aspártico o serina proteasas emplean un mecanismo similar para catalizar un tipo de reacción común, pero actúan sobre diferentes sustratos. Casi todas las familias de enzimas surgieron por medio de eventos de duplicación de gen que crean una segunda copia del gen que codifica para una enzima particular. Las proteínas codificadas por los dos genes después pueden evolucionar de manera independiente para reconocer distintos sustratos, lo que da por resultado, por ejemplo, quimotripsina, que desdobla enlaces peptídicos en el lado carboxilo terminal de aminoácidos hidrofóbicos grandes, y tripsina, que desdobla enlaces peptídicos en el lado carboxilo terminal de aminoácidos básicos. Se dice que las proteínas que divergieron desde un ancestro común son **homólogas** entre sí. La ascendencia común de enzimas puede inferirse



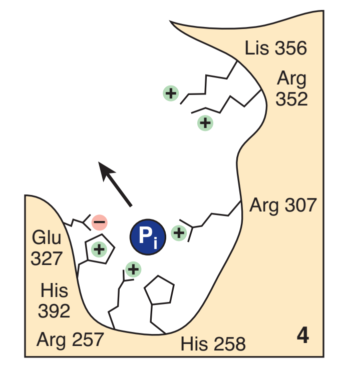
E • Fru-2,6-P_2

Lis 356
Arg 352
6–
2–
O–H
Arg 307
Glu 327
His 392
Arg 257
His 258
2

E-P • Fru-6-P



E-P • H_2O



E • P_i

FIGURA 7–8 Catálisis mediante fructosa-2,6-bisfosfatasa. 1) Lis 356 y Arg 257, 307 y 352 estabilizan la carga negativa cuádruple del sustrato mediante interacciones carga-carga. Glu 327 estabiliza la carga positiva en His 392. 2) El nucleófilo His 392 ataca el grupo fosforilo C-2 y lo transfiere a His 258, lo que forma un intermediario fosforilo-enzima. La fructosa 6-fosfato ahora abandona la enzima. 3) El ataque nucleofílico por una molécula de agua, posiblemente ayudado por Glu 327 que actúa como una base, forma fosfato inorgánico. 4) Se libera ortofosfato inorgánico a partir de Arg 257 y Arg 307. (Reproducida, con autorización, de Pilkis SJ, *et al*.: 6-Phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase: A metabolic signaling enzyme. Annu Rev Biochem 1995;64:799. © 1995 by Annual Reviews, www.annualreviews.org.)

a partir de la presencia de aminoácidos específicos en la misma posición en cada miembro de la familia. Se dice que estos residuos son **residuos conservados**. En el **cuadro 7-1** se ilustra la conservación estructural primaria de dos componentes de la red de transmisión de carga para varias serina proteasas. Entre los residuos más conservados figuran los que participan de manera directa en la catálisis.

LAS ISOZIMAS SON FORMAS DE ENZIMA DISTINTAS QUE CATALIZAN LA MISMA REACCIÓN

Los organismos superiores a menudo elaboran varias versiones de una enzima dada distintas desde el punto de vista físico, cada una de las cuales cataliza la misma reacción. Al igual que los miembros de otras familias de proteína, estos catalíticos de proteína o **isozimas** surgen por medio de duplicación de gen. Las isozimas pueden mostrar diferencias sutiles de propiedades como sensibilidad a factores reguladores particulares (cap. 9) o afinidad de sustrato (p. ej., hexocinasa y glucocinasa) que las adaptan a tejidos o circunstancias específicos. Algunas isozimas también pueden aumentar la supervivencia al proporcionar una copia de "respaldo" de una enzima esencial.

LA ACTIVIDAD CATALÍTICA DE ENZIMAS FACILITA SU DETECCIÓN

Las cantidades relativamente pequeñas de enzimas presentes en células complican la determinación de su presencia y concentración; sin embargo, la amplificación conferida por su capacidad para transformar con rapidez miles de moléculas de un sustrato específico en producto confiere a cada enzima la capacidad para revelar su presencia. Las valoraciones de la actividad catalítica de enzimas a menudo se usan en laboratorios de investigación y clínicos. En condiciones apropiadas (cap. 8), el índice de la reacción catalítica que se está monitoreando es proporcional a la cantidad de enzima presente, lo cual permite inferir su concentración.

Enzimología de molécula única

La sensibilidad limitada de las valoraciones enzimáticas tradicionales exige el uso de un grupo grande —o conjunto— de moléculas de enzima para producir cantidades de producto medibles. Los datos obtenidos de este modo reflejan la capacidad catalítica promedio de moléculas individuales. Avances recientes en **nanotecnología** han hecho posible observar —por lo general mediante microscopia de fluorescencia— eventos catalíticos que implican enzima y molécula de sustrato individuales. En consecuencia, los científicos ahora tienen la posibilidad de medir el índice de eventos catalíticos únicos y, en ocasiones, los pasos

CUADRO 7–1 Secuencias de aminoácidos en la vecindad de los sitios catalíticos de varias proteasas bovinas

Enzima	Secuencia alrededor de la serina Ⓢ	Secuencia alrededor de la histidina Ⓗ
Tripsina	D S C Q D G Ⓢ G G P V V C S G	K V V S A A Ⓗ C Y K S G
Quimotripsina A	S S C M G D Ⓢ G G P L V C K K	N V V T A A Ⓗ G G V T T
Quimotripsina B	S S C M G D Ⓢ G G P L V C Q K	N V V T A A Ⓗ C G V T T
Trombina	D A C E G D Ⓢ G G P F V M K S	P V L T A A Ⓗ C L L Y P

Nota: Las regiones mostradas son las que están a ambos lados de los residuos serilo Ⓢ e histidilo Ⓗ del sitio catalítico.

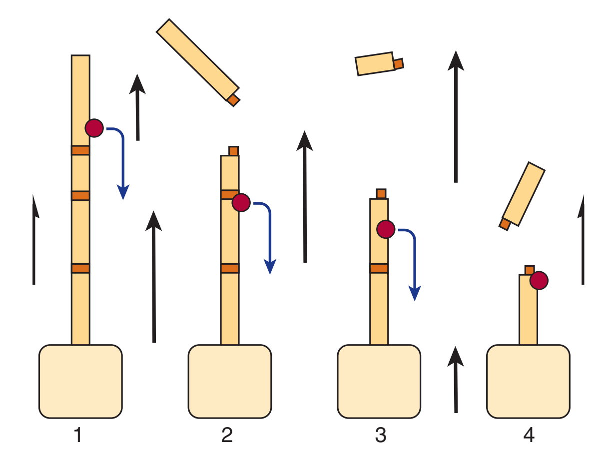


FIGURA 7–9 Observación directa de eventos de división de DNA único catalizados mediante una endonucleasa de restricción. Moléculas de DNA inmovilizadas a cuentas (amarillo claro) se colocan en un chorro de amortiguador que fluye (flechas negras), lo que hace que adopten una conformación extendida. La división en uno de los sitios de restricción (anaranjado) por una endonucleasa lleva a un acortamiento de la molécula de DNA, que puede observarse de manera directa en un microscopio porque las bases de nucleótido en el DNA son fluorescentes. Aunque la endonucleasa (rojo) no muestra fluorescencia y, por ende, es invisible, la manera progresiva en la cual se acorta la molécula de DNA (1 → 4) revela que la endonucleasa se une al extremo libre de la molécula de DNA y se mueve a lo largo de ella de un sitio a otro.

individuales en la catálisis por medio de un proceso llamado **enzimología de molécula única (figura 7-9)**.

El descubrimiento de fármacos requiere valoraciones enzimáticas idóneas para investigación de "alta capacidad de procesamiento"

Las enzimas constituyen una de las clases primarias de biomoléculas dirigidas para la creación de fármacos y otros agentes terapéuticos; por ejemplo, muchos antibióticos inhiben enzimas que son singulares para microbios patógenos. El descubrimiento de nuevos fármacos se facilita mucho cuando es posible valorar un gran número de farmacóforos potenciales de una manera rápida y automatizada, proceso denominado **investigación de alta capacidad de procesamiento** (HTS). En la HTS se aprovechan avances recientes en robótica, óptica, procesamiento de datos y microfluídica para efectuar y analizar muchos miles de valoraciones simultáneas de la actividad de una enzima dada. En los dispositivos de investigación de alta capacidad de procesamiento de uso más frecuente se emplean volúmenes de 100 μl en placas de plástico con 96, 384 o 1 536 pozos, y equipo por completo automatizado capaz de surtir sustratos, coenzimas, enzimas e inhibidores potenciales en una multiplicidad de combinaciones y concentraciones. La investigación de alta capacidad de procesamiento es ideal para analizar los muchos productos de química combinacional, la síntesis simultánea de grandes bibliotecas de compuestos químicos que contienen todas las combinaciones posibles de un conjunto de precursores químicos. Las valoraciones enzimáticas que producen un producto cromogénico o fluorescente son ideales, puesto que los detectores ópticos se elaboran con facilidad mediante procedimientos de ingeniería para permitir el análisis rápido de múltiples muestras. En la actualidad, el equipo complejo requerido para números en verdad grandes de valoraciones sólo está disponible en casas farmacéuticas, laboratorios patrocinados por gobiernos, y universidades de investigación. Su principal uso es el análisis de compuestos inhibitorios con potencial final para uso como fármacos (cap. 8).

Inmunoanálisis ligados a enzima

Es factible explotar la sensibilidad de las valoraciones enzimáticas con el fin de detectar proteínas que carecen de actividad catalítica. En el **análisis inmunosorbente ligado a enzima** (ELISA) se usan anticuerpos enlazados de manera covalente a una "enzima reportera" como la fosfatasa alcalina o la peroxidasa de rábano picante cuyos productos se detectan con facilidad, por lo general mediante la absorbancia de luz o por medio de fluorescencia. El suero u otras muestras biológicas que serán analizadas son colocados en una placa de microtitulación de plástico, donde las proteínas se adhieren a la superficie de plástico y quedan inmovilizadas. A continuación, cualesquiera áreas absorbentes restantes del pozo se "bloquean" al añadir una proteína no antigénica, como albúmina de suero bovino. Entonces se añade una solución de anticuerpo enlazado de manera covalente a una enzima reportera. Los anticuerpos se adhieren al antígeno inmovilizado y quedan inmovilizados. Después se eliminan mediante lavado las moléculas de anticuerpo libres excesivas. A continuación se determinan la presencia y cantidad de anticuerpo unido al añadir el sustrato para la enzima reportera.

Las deshidrogenasas dependientes de NAD(P) son valoradas de manera espectrofotométrica

Las propiedades fisicoquímicas de los reactivos en una reacción catalizada por enzima dictan las opciones para la valoración de la actividad enzimática. En las valoraciones espectrofotométricas se explota la capacidad de un sustrato o producto para absorber luz. Las coenzimas reducidas NADH y NADPH, escritas como NAD(P)H, absorben luz a una longitud de onda de 340 nm, no así sus formas oxidadas $NAD(P)^+$ (**figura 7-10**). Por ende, cuando el $NAD(P)^+$ se reduce, la absorbancia a 340 nm aumenta en proporción con —y a un índice determinado por— la cantidad de NAD(P)H producida. Por el contrario, para una deshidrogenasa que cataliza la oxidación de NAD(P)H, se observará un decremento de la absorbancia a 340 nm. En cada caso, el índice de cambio de la densidad óptica a 340 nm será proporcional a la cantidad de enzima presente.

Muchas enzimas son valoradas mediante acoplamiento a una deshidrogenasa

Suele ser más difícil de efectuar la valoración de enzimas cuyas reacciones no se acompañan de un cambio de la absorbancia o de la fluorescencia. En ocasiones es posible transformar el producto o el sustrato restante en un compuesto que se detecta con mayor facilidad. En otros casos, antes de la medición, el producto de la reacción quizá tenga que separarse de sustrato que no ha reaccionado. Una estrategia alternativa es crear un sustrato sintético cuyo producto absorbe luz o muestra fluorescencia. El

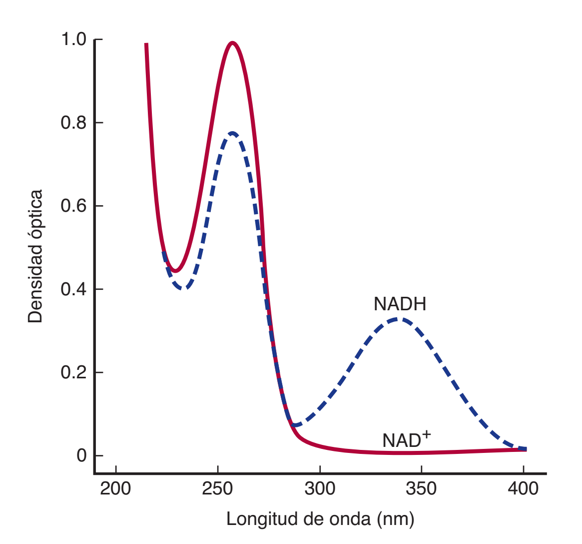


FIGURA 7–10 Espectros de absorción de NAD^+ y NADH. Las densidades son para una solución de 44 mg/L en una célula con una trayectoria de luz de 1 cm. El $NADP^+$ y NADPH tienen espectros análogos a los del NAD^+ y NADH, respectivamente.

p-nitrofenilo fosfato, por ejemplo, es un sustrato artificial para ciertas fosfatasas y para quimotripsina, que no absorbe luz visible; sin embargo, después de la hidrólisis, el anión *p*-nitrofenilato resultante absorbe luz a 419 nm.

Otro método bastante común es emplear una valoración "acoplada" (**figura 7-11**); por lo común una deshidrogenasa cuyo sustrato es el producto de la enzima de interés se añade en exceso catalítico. El índice de aparición o desaparición de NAD(P)H depende entonces del índice de la reacción enzimática a la cual se ha acoplado la deshidrogenasa.

EL ANÁLISIS DE CIERTAS ENZIMAS AYUDA AL DIAGNÓSTICO

El análisis de enzimas en el plasma sanguíneo ha desempeñado una función fundamental en el diagnóstico de varios procesos morbosos. Muchas enzimas son constituyentes funcionales de la sangre; entre algunos ejemplos están seudocolinesterasa, lipoproteína lipasa, así como componentes de la cascada de eventos en la coagulación de la sangre y la disolución de coágulo. Otras enzimas se liberan hacia el plasma después de muerte o lesión celular; si bien estas últimas no desempeñan una función fisiológica en el plasma, su aparición o sus concentraciones son de utilidad en el diagnóstico y el pronóstico de enfermedades y lesiones que afectan tejidos específicos. Después de lesión, la concentración plasmática de una enzima liberada puede aumentar en etapas tempranas o tardías, y declinar de manera rápida o con lentitud. Las proteínas del citoplasma tienden a aparecer con mayor rapidez que las de organelos subcelulares. La rapidez con la cual las enzimas y otras proteínas son eliminadas del plasma varía con su susceptibilidad a proteólisis y permeabilidad a través de los glomérulos renales.

El análisis cuantitativo de la actividad de las enzimas o de otras proteínas liberadas —por lo general en plasma o suero, aunque también en orina o en diversas células— proporciona información respecto al diagnóstico, el pronóstico y la respuesta al tratamiento. En el análisis de la *actividad* enzimática de manera característica se emplean valoraciones cinéticas estándar de índices de reacción inicial. El **cuadro 7-2** lista varias enzimas valiosas en el diagnóstico clínico; sin embargo, estas enzimas no son absolutamente específicas para la enfermedad indicada. Por ejemplo, las concentraciones sanguíneas elevadas en fosfatasa ácida prostática a menudo se relacionan con cáncer prostático, pero también con ciertos otros cánceres y enfermedades no cancerosas. En consecuencia, los datos de la valoración enzimática deben considerarse junto con otros factores recabados por medio de un examen clínico integral. Los factores por considerar en la interpretación de los datos sobre enzimas son: edad del paciente, sexo, antecedentes personales no patológicos y patológicos, posible consumo de fármacos o drogas, así como la sensibilidad y la especificidad diagnóstica de la prueba enzimática.

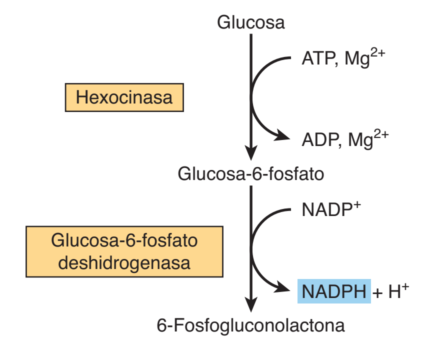


FIGURA 7–11 Valoración enzimática acoplada para la actividad de hexocinasa. La producción de glucosa-6-fosfato mediante la hexocinasa está acoplada a la oxidación de este producto por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en presencia de enzima añadida y $NADP^+$. Cuando hay un exceso de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, el índice de formación de NADPH, que puede medirse a 340 nm, está regido por el índice de formación de glucosa-6-fosfato por la hexocinasa.

CUADRO 7–2 Principales enzimas séricas usadas en el diagnóstico clínico

Enzima sérica	Principal uso diagnóstico
Aminotransferasas	
Aspartato aminotransferasa (AST o SGOT)	Infarto de miocardio
Alanina aminotransferasa (ALT o SGPT)	Hepatitis viral
Amilasa	Pancreatitis aguda
Ceruloplasmina	Degeneración hepatolenticular (enfermedad de Wilson)
Creatina cinasa	Trastornos musculares e infarto de miocardio
γ-Glutamil transferasa	Diversas enfermedades hepáticas
Isozima 5 de la lactato deshidrogenasa	Enfermedades hepáticas
Lipasa	Pancreatitis aguda
Fosfatasa ácida	Carcinoma metastásico de la próstata
Fosfatasa alcalina (isozimas)	Diversos trastornos óseos, enfermedades hepáticas obstructivas

Nota: Muchas de las enzimas anteriores no son específicas para la enfermedad listada.

Las enzimas ayudan al diagnóstico de infarto de miocardio (MI)

Una enzima útil para enzimología diagnóstica debe ser hasta cierto punto específica para el tejido u órgano bajo estudio, aparecer en el plasma u otro líquido en un momento útil para el diagnóstico (la "ventana diagnóstica") y prestarse a la valoración automatizada. Las enzimas que se utilizan para confirmar un MI ilustran el concepto de una "ventana diagnóstica" y proporcionan una perspectiva histórica sobre el uso de diferentes enzimas para este propósito.

La detección de una enzima debe ser posible en el transcurso de algunas horas, luego de un MI para confirmar un diagnóstico preliminar y permitir el inicio de terapia apropiada. De este modo, las enzimas que sólo aparecen en el plasma 12 h o más después de lesión, tienen utilidad limitada. Las primeras enzimas usadas para diagnosticar MI fueron la aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y lactato deshidrogenasa (LDH). Sin embargo, la AST y la ALT resultaron no ser las idóneas, puesto que aparecen en el plasma con relativa lentitud y no son específicas para el músculo cardiaco. Si bien la lactato deshidrogenasa también se libera con relativa lentitud hacia el plasma, ofreció la ventaja de especificidad hística como una consecuencia de su estructura cuaternaria.

La LDH es una enzima tetramérica que consta de dos tipos de monómeros: H (de *heart* [corazón]) y M (de músculo) que se combinan para dar cinco isozimas de LDH: HHHH (I_1), HHHM (I_2), HHMM (I_3), HMMM (I_4) y MMMM (I_5). La expresión específica para tejido de los genes que codifican para H y M determina las proporciones relativas de cada subunidad en diferentes tejidos. La isozima I_1 predomina en el tejido cardiaco y la isozima I_5 en el hígado; de modo que la lesión hística libera un modelo característico de isozimas de LDH que es posible separar mediante electroforesis y detectar usando una valoración acoplada (**figura 7-12**). En la actualidad, la LDH ha quedado suplantada como un marcador para MI por otras proteínas que aparecen con mayor rapidez en el plasma.

La creatina cinasa (CK) tiene tres isozimas: CK-MM (músculo estriado), CK-BB (cerebro) y CK-MB (corazón y músculo estriado). La CK-MB tiene una ventana diagnóstica útil; aparece en el transcurso de 4 a 6 h luego de un MI, alcanza un máximo a las 24 h, y regresa a la basal hacia las 48 a 72 h. Al igual que para la LDH, las isozimas de CK individuales son separables mediante electroforesis, lo que facilita la detección. La medición de la concentración plasmática de CK se sigue usando para evaluar trastornos del músculo esquelético, como la distrofia muscular de Duchenne. Sin embargo, en la actualidad en casi todos los laboratorios clínicos la medición de la concentración plasmática de troponina ha remplazado a la CK como el marcador diagnóstico preferido para MI.

Troponinas

La **troponina** es un complejo de tres proteínas comprendidas en la contracción muscular en los *músculos estriado* y *cardiaco*, no así en el *músculo liso* (cap. 49). La medición inmunológica de las concentraciones plasmáticas de troponinas cardiacas I y T proporciona indicadores sensibles y específicos de daño del músculo cardiaco. Las concentraciones de troponina aumentan 2 a 6 h después de un MI y permanecen elevadas durante 4 a 10 días. Además del MI, otro tipo de daño del músculo cardiaco también aumenta las concentraciones séricas de troponina. Así que las troponinas cardiacas sirven como un marcador de todo el daño del músculo cardiaco. La búsqueda de marcadores adicionales para enfermedad cardiaca —como albúmina modificada por isquemia y la evaluación simultánea de un espectro de marcadores diagnósticos por medio de proteómica— aún es un área activa de investigación clínica.

También es factible emplear enzimas en el laboratorio clínico como herramientas para determinar la concentración de metabolitos críticos; por ejemplo, la glucosa oxidasa suele utilizarse para medir la concentración plasmática de glucosa. Cada vez con mayor frecuencia se emplean enzimas como recursos para el tratamiento de lesión y enfermedad. El activador del plasmi-

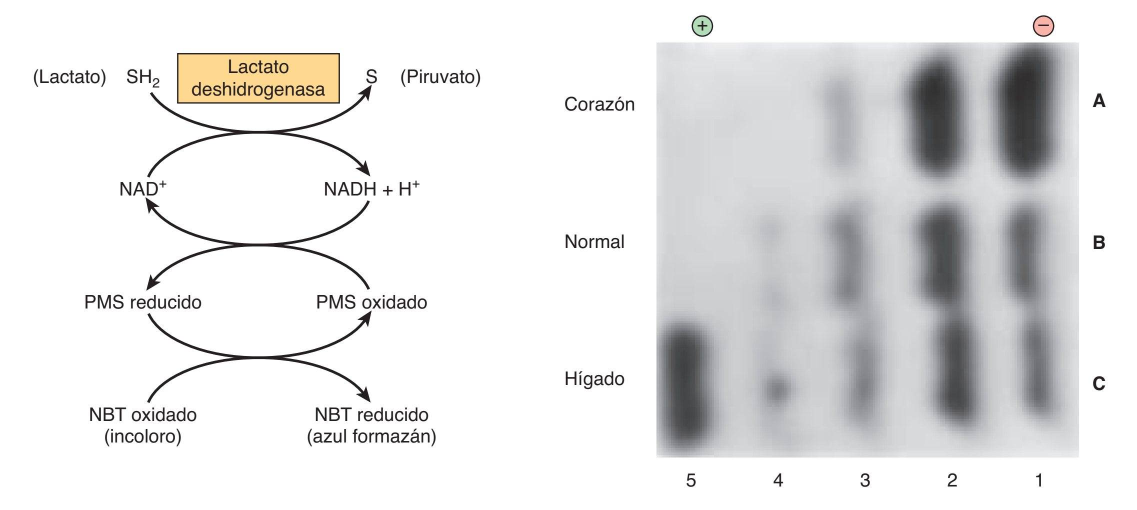


FIGURA 7–12 Modelos normal y patológico de isozimas de lactato deshidrogenasa (LDH) en el suero humano. Las isozimas de LDH en el suero se separaron mediante electroforesis y fueron visualizadas usando el orden de reacción acoplado que se muestra a la izquierda (NBT, nitroazul tetrazolio; PMS, metilsulfato de fenazina). A la derecha se muestra el electroferograma coloreado. El modelo A es suero de un paciente con un infarto de miocardio, B es suero normal y C es suero de un paciente con enfermedad hepática. Los números arábigos denotan isozimas de LDH específicas.

nógeno hístico (tPA) o la estreptocinasa se usan en el tratamiento de MI agudo, mientras que la tripsina ha sido utilizada en el tratamiento de fibrosis quística (cap. 54).

LAS ENZIMAS FACILITAN EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES GENÉTICAS E INFECCIOSAS

En muchas técnicas diagnósticas se aprovechan la especificidad y eficiencia de las enzimas que actúan sobre oligonucleótidos como el DNA (cap. 39). Las enzimas conocidas como **endonucleasas de restricción**, por ejemplo, dividen DNA bicatenario en sitios especificados por una secuencia de cuatro, seis o más pares de bases llamados **sitios de restricción**. La división de una muestra de DNA con una enzima de restricción produce un grupo característico de fragmentos de DNA de menor tamaño (cap. 39). Las desviaciones del modelo de producto normal, llamadas **polimorfismos de longitud de fragmento de restricción (RFLP)**, ocurren si una mutación hace a un sitio de restricción irreconocible para su endonucleasa de restricción cognada o, de manera alternativa, genera un nuevo sitio de reconocimiento. Los RFLP en la actualidad se utilizan para facilitar la detección prenatal de diversos trastornos hereditarios, entre ellos rasgo de células falciformes, talasemia β, fenilcetonuria en lactantes y enfermedad de Huntington.

En la **reacción en cadena de polimerasa (PCR)** se emplean una DNA polimerasa termoestable y preparadores oligonucleótido apropiados para producir miles de copias de un segmento definido de DNA a partir de una cantidad diminuta de material inicial (cap. 39). La PCR permite a los científicos médicos, biológicos y forenses detectar y caracterizar DNA que en un inicio está presente a cifras demasiado bajas como para realizar una detección directa. Además de investigar mutaciones genéticas, la PCR puede usarse para detectar e identificar agentes patógenos y parásitos como *Trypanosoma cruzi*, el agente causal de la enfermedad de Chagas, y *Neisseria meningitidis*, el agente causal de la meningitis bacteriana, por medio de la amplificación selectiva de su DNA.

EL DNA RECOMBINANTE CONSTITUYE UN IMPORTANTE RECURSO PARA ESTUDIAR ENZIMAS

La tecnología de DNA recombinante ha surgido como un recurso importante en el estudio de las enzimas; a fin de examinar la estructura y función de enzimas es necesario contar con muestras muy purificadas de las mismas. El aislamiento de una enzima individual, en particular si está presente en una concentración baja, de entre las miles de proteínas existentes en una célula, en ocasiones es una tarea en extremo difícil. Si el gen que codifica para la enzima de interés ha sido clonado, por lo general es posible producir grandes cantidades de su proteína codificada en *Escherichia coli* o levadura. Sin embargo, no todas las proteínas animales pueden expresarse de forma activa en células microbianas ni los microbios realizan ciertas tareas de procesamiento postraduccional. Debido a ello, un gen puede expresarse en sistemas de células animales en cultivo empleando el vector de expresión baculovirus para transformar células de insecto cultivadas. El capítulo 39 presenta más detalles respecto a las técnicas de DNA recombinante.

Las proteínas de fusión recombinantes se purifican mediante cromatografía de afinidad

La tecnología de DNA recombinante también puede usarse para crear proteínas modificadas que se purifican con facilidad mediante cromatografía de afinidad. El gen de interés se enlaza a una secuencia de oligonucleótido que codifica una extensión carboxilo o amino terminal para la proteína codificada. La proteína modificada resultante, llamada **proteína de fusión**, contiene un dominio hecho a la medida para interactuar con un soporte de afinidad específico. Un método popular es fijar un oligonucleótido que codifica para seis residuos histidina consecutivos. La proteína “marca de His” (o “cola de His”) que se expresa se une a soportes cromatográficos que contienen un ion metálico divalente inmovilizado como Ni^{2+} o Cd^{2+}. De manera alternativa, el dominio de unión a sustrato de la glutatión S-transferasa (GST) puede servir como una “marca de GST”. La **figura 7-13** ilustra la purificación de una proteína de fusión GST usando un soporte de afinidad que contiene glutatión unido. Las proteínas de fusión a menudo también codifican para un sitio de división para una proteasa muy específica como la trombina en la región que enlaza las dos porciones de la proteína; esto permite la eliminación del dominio de fusión añadido después de purificación de afinidad.

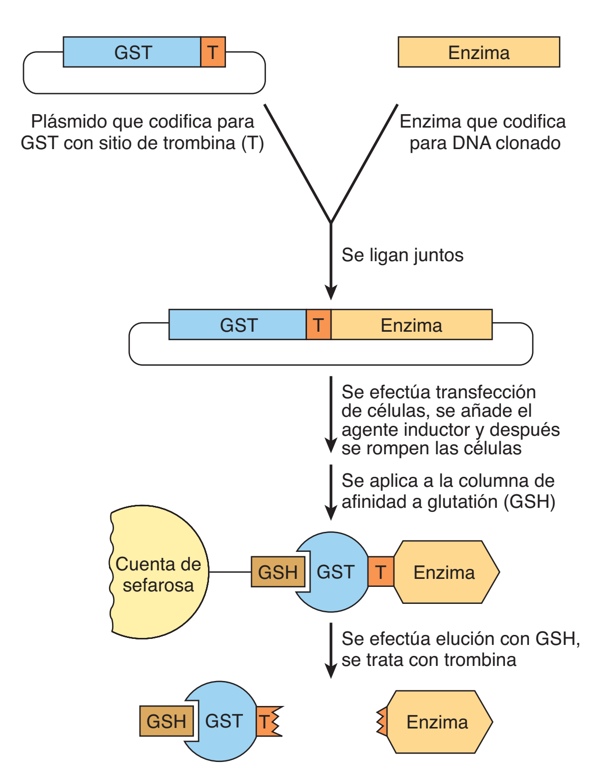


FIGURA 7–13 **Uso de proteínas de fusión glutatión S-transferasa (GST) para purificar proteínas recombinantes.** (GSH, glutatión.)

La mutagénesis dirigida hacia sitio proporciona información mecanicista

Una vez que se ha establecido la capacidad para expresar una proteína a partir de su gen clonado, cabe la posibilidad de emplear **mutagénesis dirigida hacia sitio** para cambiar residuos aminoacilo específicos al alterar sus codones. Usado en combinación con análisis cinéticos y cristalografía con rayos X, este método facilita la identificación de las funciones específicas de residuos aminoacilo dados en la unión a sustrato y la catálisis. Por ejemplo, la inferencia de que un residuo aminoacilo particular funciona como un ácido general puede probarse mediante su remplazo con un residuo aminoacilo incapaz de donar un protón.

RIBOZIMAS: ARTEFACTOS DEL MUNDO DEL RNA

Cech descubrió la primera molécula de RNA catalítica

La participación de los catalizadores enzimáticos en la maduración postraduccional de ciertas proteínas tiene analogías en el mundo del RNA. Muchas moléculas de RNA pasan por procesamiento en el cual se eliminan segmentos de oligonucleótido, y los segmentos restantes se vuelven a ligar para formar el producto maduro (cap. 36). Sin embargo, no todos estos catalíticos son proteínas. Mientras estaban examinando el procesamiento de moléculas de RNA ribosomal (rRNA) en el protozoario ciliado *Tetrahymena,* Thomas Cech y sus colaboradores observaron, a principios del decenio de 1980-1989, que el procesamiento del rRNA 26S procedió sin contratiempos *in vitro* incluso en *ausencia* total de proteína. La fuente de esta actividad de empalme se rastreó a un segmento catalítico de 413 bp que retuvo su actividad catalítica incluso cuando se replicó en *E. coli* (cap. 39). Antes de esa época, se había creído que los polinucleótidos sólo sirven como entidades de almacenamiento de información y de transmisión de la misma, y que la catálisis estaba restringida únicamente a proteínas.

Desde entonces se han descubierto varias otras ribozimas. Casi todas catalizan reacciones de desplazamiento nucleofílicas dirigidas a los enlaces fosfodiéster del esqueleto del RNA. En RNA que se dividen por sí mismos, pequeños, como cabeza de martillo (*hammerhead*) o RNA del virus de la hepatitis delta, el nucleófilo atacante es agua, y el resultado es hidrólisis. Para las ribozimas intrón del grupo 1 grandes, el nucleófilo atacante es el 3'-hidroxilo de la ribosa terminal de otro segmento de RNA, y el resultado es una reacción de empalme.

El ribosoma —la ribozima final

El ribosoma fue la primera "máquina molecular" reconocida. El ribosoma, un complejo masivo formado por grandes números de subunidades de proteínas y varias moléculas de RNA ribosomal grandes, desempeña el proceso de importancia vital y muy complejo de sintetizar cadenas polipeptídicas largas siguiendo las instrucciones codificadas en moléculas de RNA mensajero (cap. 37). Durante muchos años se supuso que los RNA ribosomales desempeñaban un papel estructural pasivo, o que tal vez ayudaban en el reconocimiento de mRNA cognados por medio de un mecanismo de formación de pares de bases.

La hipótesis del mundo del RNA

El descubrimiento de ribozimas tuvo una profunda influencia sobre la teoría evolutiva. Durante muchos años, diversos científicos habían emitido la hipótesis de que los primeros catalíticos biológicos se formaron cuando los aminoácidos contenidos en el caldo primordial mostraron coalescencia para formar las primeras proteínas simples. Cuando quedó de manifiesto que el RNA podía tanto portar información como catalizar reacciones químicas simples, surgió una nueva hipótesis del "mundo del RNA" en la cual el RNA constituyó la primera macromolécula biológica. Finalmente, el DNA surgió como un oligonucleótido con mayor estabilidad química para el almacenamiento de información a largo plazo, mientras que las proteínas, en virtud de su variedad mucho mayor de grupos funcionales químicos, dominaron la catálisis. Si se asume que se formó alguna clase de híbrido de RNA-proteína como un intermediario en la transición desde catalíticos ribonucleótido hacia polipeptídicos, sólo es necesario mirar al ribosoma para encontrar el eslabón perdido probable.

¿Por qué las proteínas no se hicieron cargo de todas las funciones catalíticas? Probablemente, en el caso del ribosoma el proceso fue demasiado complejo y demasiado esencial como para dar gran oportunidad para que posibles competidores prevalecieran. En el caso de los RNA que se dividen por sí mismos pequeños, y los intrones que se empalman por sí mismos, tal vez representen uno de los pocos casos en los cuales la autocatálisis de RNA es más eficiente que el desarrollo de un nuevo catalítico proteínico.

RESUMEN

- Las enzimas son catalíticos eficientes cuya especificidad estricta se extiende a la clase de reacción catalizada, y típicamente a un solo sustrato.
- Los grupos prostéticos orgánicos e inorgánicos, cofactores y coenzimas desempeñan papeles importantes en la catálisis. Las coenzimas, muchas de las cuales son derivados de vitamina B, sirven como "transbordadores" para grupos de uso común, como aminas, electrones y grupos acetilo.
- Durante la catálisis, las enzimas suelen redirigir los cambios conformacionales inducidos por la unión a sustrato para efectuar cambios complementarios en el sustrato que faciliten su transformación en producto.
- Los mecanismos catalíticos empleados por las enzimas comprenden la introducción de tensión, la aproximación de reactantes, la catálisis acidobásica y la catálisis covalente. La proteasa del HIV ilustra la catálisis acidobásica; la quimotripsina y la fructosa-2,6-bisfosfatasa ilustran la catálisis covalente.
- Los residuos aminoacilo que participan en la catálisis están altamente conservados entre todas las clases de una enzima dada. La mutagénesis dirigida hacia sitio, que se usa para cambiar residuos que se sospecha que son importantes en la catálisis por la unión a sustrato, proporciona información sobre los mecanismos de acción de enzimas.
- La actividad catalítica de enzimas revela su presencia, facilita su detección y proporciona la base para inmunoensayos ligados

a enzima. Muchas enzimas pueden analizarse por medio de espectrofotometría al acoplarlas a una deshidrogenasa dependiente de $NAD(P)^+$.

- La química combinacional genera extensas bibliotecas de activadores e inhibidores potenciales de enzimas, que pueden probarse mediante investigación de alta capacidad de procesamiento.
- El análisis de enzimas plasmáticas ayuda al diagnóstico de infarto de miocardio, pancreatitis aguda y diversos trastornos óseos y hepáticos, y a establecer el pronóstico de los mismos.
- Las endonucleasas de restricción facilitan el diagnóstico de enfermedades genéticas al revelar polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción, y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) amplifica el DNA inicialmente presente en cantidades demasiado pequeñas para análisis.
- La fijación de un polihistidilo, glutatión S-transferasa (GST), u otra "marca" al N o C terminal de una proteína recombinante facilita su purificación mediante cromatografía de afinidad sobre un soporte sólido que contiene un ligando inmovilizado, como un catión divalente (p. ej., Ni^{2+}) o GST. A continuación, proteasas específicas pueden eliminar las "marcas" de afinidad y generar la enzima natural.
- No todas las enzimas son proteínas. Se conocen varias ribozimas que pueden cortar los enlaces fosfodiéster del RNA y volver a empalmarlos. En el ribosoma, la catálisis depende principalmente del rRNA y no de los componentes polipeptídicos.

REFERENCIAS

Brik A, Wong C-H: HIV-1 protease: mechanism and drug discovery. Org Biomol Chem 2003;1:5.

Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics.* 4th ed. Elsevier, 2006.

Cornish PV, Ha T: A survey of single-molecule techniques in chemical biology. ACS Chem Biol 2007;2:53.

Doudna JA, Lorsch JR: Ribozyme catalysis: not different, just worse. Nature Struct Biol 2005;12:395.

Frey PA, Hegeman AD: *Enzyme Reaction Mechanisms.* Oxford University Press. 2006.

Geysen HM, Schoenen F, Wagner D, Wagner R: Combinatorial compound libraries for drug discovery: an ongoing challenge. Nature Rev Drug Disc 2003;2:222.

Goddard J-P, Reymond J-L: Enzyme assays for high-throughput screening. Curr Opin Biotech 2004;15:314.

Gupta S, de Lemos JA: Use and misuse of cardiac troponins in clinical practice. Prog Cardiovasc Dis 2007;50:151.

Hedstrom L: Serine protease mechanism and specificity. Chem Rev 2002;102:4501.

Melanson SF, Tanasijevic MJ: Laboratory diagnosis of acute myocardial injury. Cardiovascular Pathol 2005;14:156.

Pereira DA, Williams JA: Origin and evolution of high throughput screening. Br J Pharmacol 2007;152:53.

René AWF, Titman CM, Pratap CV, et al: A molecular switch and proton wire synchronize the active sites in thiamine enzymes. Science 2004;306:872.

Schmeing TM, Ramakrishnan V: What recent ribosome structures have revealed about the mechanism of translation. Nature 2009; 461:1234.

Schafer B, Gemeinhardt H, Greulich KO: Direct microscopic observation of the time course of single-molecule DNA restriction reactions. Agnew Chem Int Ed 2001;40:4663.

Silverman RB: *The Organic Chemistry of Enzyme-Catalyzed Reactions.* Academic Press, 2002.

Sundaresan V, Abrol R: Towards a general model for protein-substrate stereoselectivity. Protein Sci 2002;11:1330.

Todd AE, Orengo CA, Thornton JM: Plasticity of enzyme active sites. Trends Biochem Sci 2002;27:419.

Urich T, Gomes CM, Kletzin A, et al: X-ray structure of a self-compartmentalizing sulfur cycle metalloenzyme. Science 2006;311:996.

Walsh CT: *Enzymatic Reaction Mechanisms*. Freeman, 1979.

CAPÍTULO

8

Enzimas: cinética

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir el alcance y los propósitos generales del estudio de la cinética enzimática.
- Indicar si Δ*G*, el cambio general de energía libre para una reacción, depende del mecanismo de reacción.
- Indicar si Δ*G* es una función de las *tasas* de reacciones.
- Explicar la relación entre K_{eq}, concentraciones de sustratos y productos en equilibrio, y la proporción de las constantes de tasa k_1/k_{-1}.
- Esbozar cómo la temperatura y la concentración de iones hidrógeno, enzima y sustrato afectan la tasa de una reacción catalizada por enzima.
- Indicar por qué en la medición de laboratorio de la tasa de una reacción catalizada por enzima típicamente se emplean las condiciones de tasa inicial.
- Describir la aplicación de formas lineales de la ecuación de Michaelis-Menten a la determinación de K_m y $V_{máx}$.
- Dar una razón por la cual se usa una forma lineal de la ecuación de Hill para evaluar la cinética de unión a sustrato mostrada por algunas enzimas multiméricas.
- Contrastar los efectos de una concentración creciente de sustrato sobre la cinética de inhibición competitiva y no competitiva simple.
- Describir la manera en la cual los sustratos se añaden a, y los productos parten de, una enzima que sigue un mecanismo de ping-pong, y hacer lo mismo para una enzima que sigue un mecanismo de equilibrio rápido.
- Ilustrar la utilidad de la cinética enzimática para averiguar el modo de acción de fármacos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La **cinética enzimática** es el campo de la bioquímica que se encarga de la medición cuantitativa de los índices de reacciones catalizadas por enzimas, y del estudio sistemático de factores que afectan estos índices. El análisis cinético puede revelar el número y orden de los pasos individuales mediante los cuales las enzimas transforman sustratos en productos. Junto con la mutagénesis dirigida hacia sitio y otras técnicas que sondean la estructura de proteínas, los análisis cinéticos revelan detalles del mecanismo catalítico de una enzima dada.

Un conjunto completo y balanceado de actividades enzimáticas tiene importancia fundamental para el mantenimiento de la homeostasis. De este modo, una comprensión de la cinética enzimática es importante para entender de qué modo los estados de estrés fisiológico, como la anoxia, la acidosis o alcalosis metabólica, las toxinas y los agentes farmacológicos afectan ese equilibrio. La participación de las enzimas en casi todos los procesos fisiológicos hace de ellas los mejores objetivos para fármacos que curan o aminoran enfermedad en seres humanos. La cinética enzimática aplicada representa el principal recurso mediante el cual los científicos identifican y caracterizan agentes terapéuticos que inhiben de manera selectiva los índices de procesos catalizados por enzima específicos. De este modo, la cinética enzimática desempeña una función crucial en el descubrimiento de fármacos y en la farmacodinámica comparativa, así como en la dilucidación del modo de acción de los fármacos.

LAS REACCIONES QUÍMICAS SE DESCRIBEN USANDO ECUACIONES BALANCEADAS

Una **ecuación química balanceada** lista las especies químicas iniciales (sustratos) presentes, y las nuevas especies químicas (productos) formadas para una reacción química particular, todas

en sus proporciones o **estequiometría** correctas. Por ejemplo, en la ecuación balanceada (1) que aparece a continuación se describe la reacción de una molécula, cada una, de sustratos A y B, para formar una molécula, cada una, de productos P y Q.

$$A + B \rightleftarrows P + Q \qquad \textbf{(1)}$$

Las dobles flechas indican reversibilidad, propiedad intrínseca de todas las reacciones químicas. De este modo, para la reacción (1), si A y B pueden formar P y Q, estos últimos también pueden formar A y B. Por ende, la designación de un reactivo particular como "sustrato" o "producto" es un poco arbitraria porque los productos para una reacción descrita en una dirección son los sustratos para la reacción inversa. Sin embargo, el término "producto" a menudo se usa para designar los reactivos cuya formación es favorecida desde el punto de vista termodinámico. Las reacciones para las cuales los factores termodinámicos favorecen de manera significativa la formación de los productos hacia los cuales apunta la flecha, a menudo se representan con una flecha única como si fueran "irreversibles":

$$A + B \rightarrow P + Q \qquad \textbf{(2)}$$

También se usan flechas unidireccionales para describir reacciones en células vivas en las cuales los productos de la reacción (2) son consumidos de inmediato por una reacción subsiguiente catalizada por enzima. Por ende, la eliminación rápida del producto P o Q impide de manera efectiva la reacción inversa, lo que hace a la ecuación (2) **irreversible desde el punto de vista funcional en condiciones fisiológicas**.

LOS CAMBIOS DE LA ENERGÍA LIBRE DETERMINAN LA DIRECCIÓN Y EL ESTADO DE EQUILIBRIO DE REACCIONES QUÍMICAS

El cambio de energía libre de Gibbs ΔG (también llamado la energía libre o energía de Gibbs) describe tanto la *dirección* en la cual tenderá a proceder una reacción química, como las concentraciones de reactivos y productos que estarán presentes en equilibrio. La ΔG para una reacción química es igual a la suma de las energías libres de la formación de los productos de la reacción ΔG_p menos la suma de las energías libres de formación de los sustratos ΔG_s. ΔG^0 denota el cambio de energía libre que acompaña a la transición desde el estado estándar, concentraciones uno molar de sustratos y productos, hasta el equilibrio. Un término bioquímico más útil es $\Delta G^{0'}$, que define el ΔG^0 a un estado estándar de 10^{-7} M protones, pH de 7.0 (cap. 11). Si la energía libre de formación de los productos es más baja que la de los sustratos, los signos de ΔG^0 y $\Delta G^{0'}$ serán negativos, lo que indica que la reacción como está escrita se favorece en la dirección de izquierda a derecha. Esas reacciones se denominan **espontáneas**. El **signo** y la **magnitud** del cambio de energía libre determinan qué tan lejos procederá la reacción. En la ecuación (3) se ilustra la relación entre la constante de equilibrio K_{eq} y ΔG^0:

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_{eq} \qquad \textbf{(3)}$$

donde R es la constante gaseosa (1.98 cal/mol°K u 8.31 J/mol°K) y T es la temperatura absoluta en grados Kelvin. K_{eq} es igual al producto de las concentraciones de los productos de la reacción, cada uno elevado a la potencia de su estequiometría, dividido por el producto de los sustratos, cada uno elevado a la potencia de su estequiometría.

Para la reacción $A + B \rightleftarrows P + Q$

$$K_{eq} = \frac{[P][Q]}{[A][B]} \qquad \textbf{(4)}$$

y para la reacción (5)

$$A + A \rightleftarrows P \qquad \textbf{(5)}$$

$$K_{eq} = \frac{[P]}{[A]^2} \qquad \textbf{(6)}$$

ΔG^0 puede calcularse a partir de la ecuación (3) si se conocen las concentraciones molares de sustratos y productos presentes en equilibrio. Si ΔG^0 es un número negativo, K_{eq} será mayor que la unidad, y la concentración de productos en equilibrio excederá la de los sustratos. Si ΔG^0 es positiva, K_{eq} será menor que la unidad, y se favorecerá la formación de sustratos.

Note que, dado que ΔG^0 está en función exclusivamente de los estados inicial y final de las especies que están reaccionando, sólo puede proporcionar información acerca de la *dirección* y el *estado de equilibrio* de la reacción. ΔG^0 es independiente del **mecanismo** de la reacción y, por ende, no proporciona información acerca de ***índices*** de reacciones. En consecuencia —y como se explica más adelante—, aunque una reacción puede tener una ΔG^0 o $\Delta G^{0'}$ negativa grande, puede, sin embargo, tener lugar a un índice insignificante.

LOS ÍNDICES DE REACCIONES ESTÁN DETERMINADOS POR SU ENERGÍA DE ACTIVACIÓN

Las reacciones proceden por estados de transición

El concepto de **estado de transición** es fundamental para entender las bases química y termodinámica de la catálisis. En la ecuación (7) se describe una reacción de transferencia de grupo en la cual un grupo E que está entrando desplaza a un grupo L que está saliendo, en un inicio fijo a *R*:

$$E + R - L \rightleftarrows E - R + L \qquad \textbf{(7)}$$

El resultado neto de este proceso es transferir el grupo R desde L hacia E. A la mitad del desplazamiento, el enlace entre R y L se ha debilitado pero todavía no se ha roto por completo, y el nuevo enlace entre E y R hasta ahora está formado de manera incompleta. Dicho intermediario transitorio —en el cual no existe sustrato ni producto libre— se denomina el **estado de transición, E···R···L**. Las líneas punteadas representan los enlaces "parciales" que están pasando por formación y rotura. En la **figura 8-1** se proporciona una ilustración más detallada del estado de transición intermedio formado durante la transferencia de un grupo fosforilo.

Cabe considerar que la reacción (7) consta de dos "reacciones parciales"; la primera corresponde a la formación (F) y la segunda a la descomposición (D) subsiguiente del intermediario

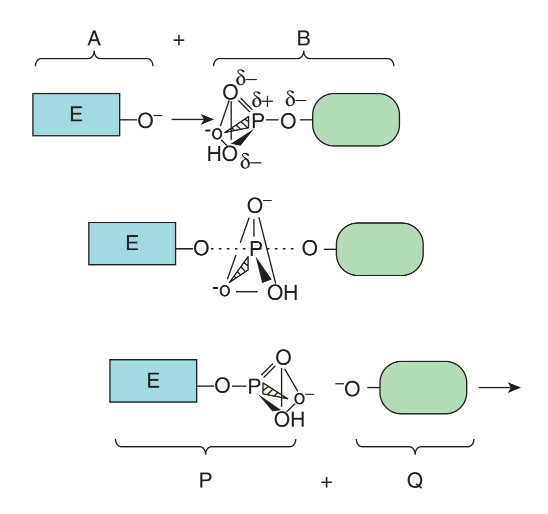


FIGURA 8–1 Formación de un estado de transición intermedio durante una reacción química simple, A + B → P + Q. Se muestran tres etapas de una reacción química en la cual un grupo fosforilo es transferido desde un grupo L que sale hacia un grupo E que entra. Arriba: el grupo E que entra (A) se acerca al otro reactivo, L-fosfato (B). Note cómo los tres átomos de oxígeno enlazados por las líneas triangulares, y el átomo de fósforo del grupo fosforilo forman una pirámide. Centro: conforme E se acerca al L-fosfato, el nuevo enlace entre E y el grupo fosfato empieza a formarse (línea punteada) a medida que el que enlaza L al grupo fosfato se debilita. Estos enlaces parcialmente formados están indicados por líneas punteadas. Abajo: la formación del nuevo producto, E-fosfato (P), ahora está completa a medida que el grupo L (Q) que sale, egresa. Advierta cómo las características geométricas del grupo fosforilo difieren entre el estado de transición y el sustrato o producto. Note la manera en que el fósforo y los tres átomos de oxígeno que ocupan los cuatro ángulos de una pirámide en el sustrato y el producto se hacen coplanares, como se recalca por el triángulo, en el estado de transición.

de estado de transición. Al igual que para todas las reacciones, los cambios característicos de la energía libre, ΔG_F y ΔG_D se relacionan con cada reacción parcial:

$$E + R - L \rightleftarrows E \cdots R \cdots L \quad \Delta G_F \tag{8}$$

$$E \cdots R \cdots L \rightleftarrows E - R + L \quad \Delta G_D \tag{9}$$

$$E + R - L \rightleftarrows E - R + L \quad \Delta G = \Delta G_F + \Delta G_D \tag{10}$$

Para la reacción general (10), ΔG es la suma de ΔG_F y ΔG_D. Al igual que para cualquier ecuación de dos términos, es imposible inferir a partir de ΔG el signo o la magnitud de ΔG_F o ΔG_D.

Muchas reacciones comprenden múltiples estados de transición, cada uno con un cambio relacionado de energía libre. Para estas reacciones, la ΔG general representa la suma de *todos* los cambios de energía libre relacionados con la formación y la descomposición de *todos* los estados de transición. **Por ende, a partir de la ΔG general es imposible inferir el número o el tipo de estados de transición a través de los cuales procede la reacción**. Dicho de otra manera, la termodinámica general no dice nada acerca de la cinética.

La ΔG_F define la energía de activación

Al margen del signo o la magnitud de ΔG, la ΔG_F para la mayoría de reacciones químicas tiene un signo positivo, de modo que la formación de intermediarios de estado de transición requiere superar barreras de energía. Por esta razón, la ΔG_F para llegar a un estado de transición a menudo se denomina **energía de activación**, E_{act}. La facilidad —y, por ende, la frecuencia— con la cual esta barrera se supera se relaciona de manera inversa con E_{act}. De este modo, los parámetros termodinámicos que determinan la *rapidez* con la cual procede una reacción, son los valores ΔG_F para la formación de los estados de transición a través de los cuales procede la reacción. Para una reacción simple, donde α significa "proporcional a",

$$\text{Índice} \propto e^{-E_{act}/RT} \tag{11}$$

La energía de activación para la reacción que está procediendo en la dirección opuesta a la trazada es igual a $-\Delta G_D$.

MUCHOS FACTORES AFECTAN EL ÍNDICE DE REACCIÓN

La **teoría cinética** —también llamada la **teoría de la coalición**— de cinética química declara que para que dos moléculas reaccionen, deben: 1) aproximarse dentro de la distancia formadora de enlace de la otra, o "chocar", y 2) poseer suficiente energía cinética para vencer la barrera de energía para alcanzar el estado de transición. Por ende, resulta que cualquier cosa que aumente la *frecuencia* o *energía* de colisión entre sustratos aumentará el índice de la reacción en la cual participan.

Temperatura

Aumentar la temperatura incrementa la energía cinética de las moléculas. El número total de moléculas cuya energía cinética excede la barrera de energía E_{act} (barra vertical) para la formación de productos aumenta desde temperaturas bajas (A), pasando por intermedias (B) hasta altas (C) (**figura 8-2**). El aumento de la energía cinética de moléculas también aumenta su rapidez de movimiento y, por ende, la frecuencia con la cual chocan. Esta combinación de choques más frecuentes y más energéticos y, por ende, productivos, aumenta el índice de reacción.

Concentración de reactivo

La frecuencia con la cual las moléculas chocan es directamente proporcional a sus concentraciones. Para dos moléculas diferentes, A y B, la frecuencia con la cual chocan se duplicará si se duplica la concentración de A o de B. Si las concentraciones tanto de A como de B se duplican, la probabilidad de choque aumentará cuatro veces.

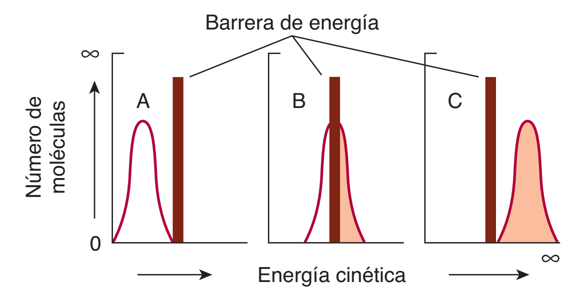


FIGURA 8–2 La barrera de energía para reacciones químicas. (Véase la exposición en el texto.)

Para una reacción química que procede a una temperatura constante que comprende una molécula, cada una, de A y B,

$$\mathrm{A + B \rightarrow P} \quad \textbf{(12)}$$

el número de moléculas que poseen energía cinética suficiente para superar la barrera de energía de activación será una constante. Por ende, el número de choques con suficiente energía para producir el producto P será directamente proporcional al número de choques entre A y B y, así, a sus concentraciones molares, denotadas por corchetes.

$$\text{Índice} \propto [\mathrm{A}][\mathrm{B}] \quad \textbf{(13)}$$

De modo similar, para la reacción representada por

$$\mathrm{A + 2B \rightarrow P} \quad \textbf{(14)}$$

que también puede escribirse como

$$\mathrm{A + B + B \rightarrow P} \quad \textbf{(15)}$$

el índice de expresión correspondiente es

$$\text{Índice} \propto [\mathrm{A}][\mathrm{B}][\mathrm{B}] \quad \textbf{(16)}$$

o

$$\text{Índice} \propto [\mathrm{A}][\mathrm{B}]^2 \quad \textbf{(17)}$$

Para el caso general, cuando *n* moléculas de A reaccionan con *m* moléculas de B,

$$n\mathrm{A} + m\mathrm{B} \rightarrow \mathrm{P} \quad \textbf{(18)}$$

el índice de expresión es

$$\text{Índice} \propto [\mathrm{A}]^n[\mathrm{B}]^m \quad \textbf{(19)}$$

Remplazar el signo de proporcionalidad con signos de igual al introducir una **constante de índice *k*** característica de la reacción en estudio da las ecuaciones (20) y (21), en las cuales los números 1 y −1 se refieren a las reacciones hacia adelante e inversa, respectivamente.

$$\text{Índice}_1 = k_1[\mathrm{A}]^n[\mathrm{B}]^m \quad \textbf{(20)}$$

$$\text{Índice}_{-1} = k_{-1}[\mathrm{P}] \quad \textbf{(21)}$$

La suma de las proporciones molares de los reactivos define el **orden cinético** de la reacción. Considere la reacción (5). El coeficiente estequiométrico para el reactivo único, A, es dos. Por ende, el índice de producción de P es proporcional al cuadrado de [A], y se dice que la reacción es de *segundo orden* respecto al reactivo A. En este caso, la reacción general también es de *segundo orden.* Por ende, k_1 se denomina una *constante de índice de segundo orden.*

En la reacción (12) se describe una reacción de segundo orden simple entre dos reactivos diferentes, A y B. El coeficiente estequiométrico para cada reactivo es uno. Por ende, mientras que el orden general de la reacción es dos, se dice que es de *primer orden* respecto de A, y de *primer orden* respecto de B. En el laboratorio, el orden cinético de una reacción respecto a un reactivo particular, al cual se hace referencia como el reactivo variable o sustrato, puede determinarse al mantener la concentración de los otros reactivos a una concentración constante, o fija, en un gran exceso sobre el reactivo variable. En estas *condiciones de seudoprimer orden*, la concentración del o los reactivos fijos permanece casi constante. De este modo, el índice de reacción dependerá de manera exclusiva de la concentración del reactivo variable, a veces también llamado el reactivo limitante. Los conceptos de orden de reacción y condiciones de seudoprimer orden no sólo se aplican a reacciones químicas simples, sino también a reacciones catalizadas por enzimas.

K_{eq} es una proporción de constantes de índice

Si bien todas las reacciones químicas son hasta cierto grado reversibles, en condiciones de equilibrio las concentraciones *generales* de reactivos y productos permanecen constantes. Por ende, en equilibrio, el índice de conversión de sustratos en productos, es igual al índice al cual los productos se convierten en sustratos:

$$\text{Índice}_1 = \text{Índice}_{-1} \quad \textbf{(22)}$$

Por ende,

$$k_1[\mathrm{A}]^n[\mathrm{B}]^m = k_{-1}[\mathrm{P}] \quad \textbf{(23)}$$

y

$$\frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{[\mathrm{P}]}{[\mathrm{A}]^n[\mathrm{B}]^m} \quad \textbf{(24)}$$

La proporción de k_1 a k_{-1} se denomina la constante de equilibrio K_{eq}. Es necesario tener en mente las propiedades importantes que siguen de un sistema en equilibrio:

1. La constante de equilibrio es una proporción de las *constantes de índice* de reacción (no los *índices* de reacción).
2. En equilibrio, los *índices* de reacción (no las *constantes de índice*) de las reacciones hacia adelante y hacia atrás son iguales.
3. El equilibrio es un estado *dinámico.* Aunque no hay cambio *neto* de la concentración de sustratos o productos, moléculas individuales de sustrato y producto continuamente se están interconvirtiendo.
4. El valor numérico de la constante de equilibrio K_{eq} puede calcularse a partir de las concentraciones de sustratos y productos en equilibrio o a partir de la proporción k_1/k_{-1}.

LA CINÉTICA DE LA CATÁLISIS ENZIMÁTICA

Las enzimas disminuyen la barrera de energía de activación para una reacción

Todas las enzimas aceleran los índices de reacción al disminuir la ΔG_F para la formación de estados de transición; sin embargo, pueden diferir en la manera en que esto se logra. Cuando el mecanismo o la secuencia de pasos químicos en el sitio activo es, en esencia, equivalente al que ocurre para la misma reacción que está procediendo en ausencia de un catalizador, **el ambiente del sitio activo disminuye la ΔG_F** al estabilizar los intermediarios de estado de transición. En otras palabras, la enzima puede imaginarse como unida al intermediario de estado de transición (figura 8-1) de manera más estrecha que a sustratos o productos. La estabilización puede comprender: 1) grupos acidobásicos colocados de manera idónea para transferir protones hacia o desde

el intermediario de estado de transición, 2) grupos cargados o iones metálicos colocados de manera idónea, que estabilizan cargas que se están formando, o 3) la imposición de tensión estérica sobre sustratos de modo que su forma se aproxima a la del estado de transición (cap. 7). La proteasa del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) (figura 7-6) ilustra la catálisis por una enzima que disminuye la barrera de activación al estabilizar un intermediario de estado de transición.

La catálisis por enzimas que procede por medio de un mecanismo de reacción *singular* típicamente ocurre cuando el intermediario de estado de transición forma un enlace covalente con la enzima **(catálisis covalente)**. El mecanismo catalítico de la serina proteasa quimotripsina (figura 7-7) ilustra la manera en la cual una enzima utiliza catálisis covalente para proporcionar una vía de reacción única.

LAS ENZIMAS NO AFECTAN LA K_{eq}

Si bien las enzimas pueden pasar por modificaciones transitorias durante el proceso de catálisis, siempre salen sin cambios cuando se completa la reacción. **Por ende, la presencia de una enzima no tiene efecto sobre la ΔG^0 para la reacción *general***, que está en función sólo de los **estados inicial y final** de los reactivos. En la ecuación 25 se muestra la relación entre la constante de equilibrio para una reacción y el cambio de energía libre estándar para esa reacción:

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_{eq} \quad (25)$$

Este principio quizá se ilustra con mayor facilidad al incluir la presencia de la enzima (Enz) en el cálculo de la constante de equilibrio para una reacción catalizada por enzima:

$$A + B + Enz \rightleftarrows P + Q + Enz \quad (26)$$

Dado que la enzima a ambos lados de las dobles flechas está presente en igual cantidad y forma idéntica, la expresión para la constante de equilibrio,

$$K_{eq} = \frac{[P][Q][Enz]}{[A][B][Enz]} \quad (27)$$

reduce a una idéntica a la que procede para la reacción en ausencia de la enzima:

$$K_{eq} = \frac{[P][Q]}{[A][B]} \quad (28)$$

Por ende, las enzimas carecen de efecto sobre la K_{eq}.

MÚLTIPLES FACTORES INFLUYEN SOBRE LOS ÍNDICES DE REACCIONES CATALIZADAS POR ENZIMA

Temperatura

El aumento de la temperatura incrementa el índice de reacciones tanto no catalizadas como catalizadas por enzima al aumentar la energía cinética y la frecuencia de choque de las moléculas que están reaccionando. Sin embargo, la energía calorífica también aumenta la energía cinética de la enzima hasta un punto que excede la barrera de energía para alterar las interacciones no covalentes que mantienen su estructura tridimensional. La cadena polipeptídica empieza entonces a desdoblarse, o **desnaturalizarse**, con una pérdida acompañante de la actividad catalítica. El rango de temperatura en el cual una enzima mantiene una conformación estable, competente desde el punto de vista catalítico, depende de —y, por lo general, excede de manera moderada— la temperatura normal de las células en las cuales reside. Las enzimas de seres humanos por lo general muestran estabilidad a temperaturas de hasta 45 a 55°C. En contraste, las enzimas de los microorganismos termofílicos que residen en manantiales calientes volcánicos u orificios hidrotérmicos submarinos, pueden ser estables hasta 100°C o incluso más.

El **coeficiente de temperatura (Q_{10})** es el factor por el cual el índice de un proceso biológico aumenta para un incremento de 10°C de temperatura. Para las temperaturas en las cuales las enzimas son estables, los índices de casi todos los procesos biológicos típicamente se duplican para un aumento de temperatura de 10°C ($Q_{10} = 2$). Los cambios de los índices de reacciones catalizadas por enzima que acompañan a un aumento o disminución de la temperatura corporal constituyen una característica de supervivencia prominente para formas de vida "de sangre fría" como lagartos o peces, cuya temperatura corporal está dictada por el ambiente externo. Sin embargo, para mamíferos y otros organismos homeotérmicos, los cambios de los índices de reacción de enzimas con la temperatura sólo asumen importancia fisiológica en circunstancias como fiebre o hipotermia.

Concentración de ion hidrógeno

El índice de casi todas las reacciones catalizadas por enzima muestra una dependencia importante de la concentración de ion hidrógeno. Casi todas las enzimas intracelulares muestran actividad óptima a valores de pH entre 5 y 9. La relación entre actividad y concentración de ion hidrógeno (**figura 8-3**) refleja el equilibrio entre la desnaturalización de enzima a pH alto o bajo, y los efectos sobre el estado cargado de la enzima, los sustratos o ambos. Para enzimas cuyo mecanismo comprende catálisis acidobásica, los residuos comprendidos deben estar en el estado de protonación apropiado para que la reacción proceda.

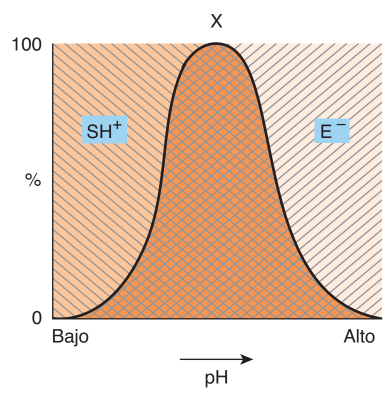


FIGURA 8–3 Efecto del pH sobre la actividad de enzima. Considere, por ejemplo, una enzima con carga negativa (E^-) que se une a un sustrato que tiene carga positiva (SH^+). Se muestra la proporción (%) de SH^+ [\\\\\\] y de E^- [///] como una función del pH. Sólo en el área cuadriculada tanto la enzima como el sustrato portan una carga apropiada.

La unión y el reconocimiento de moléculas de sustrato con grupos disociables típicamente también comprenden la formación de puentes salinos con la enzima. Los grupos cargados más frecuentes son grupos carboxilato (negativos) y aminas protonadas (positivos). La ganancia o pérdida de grupos cargados cruciales afecta de manera adversa la unión a sustrato y, así, retrasará o suprimirá la catálisis.

LAS VALORACIONES DE REACCIONES CATALIZADAS POR ENZIMA POR LO GENERAL MIDEN LA VELOCIDAD INICIAL

En casi todas las mediciones de los índices de reacciones catalizadas por enzima se emplean periodos hasta cierto punto breves, condiciones que se aproximan a las **condiciones de índice inicial**. En estas condiciones, sólo se acumulan trazas de producto, lo que hace insignificante al índice de la reacción inversa. De este modo, la **velocidad inicial (v_i)** de la reacción es en esencia la del índice de reacción hacia adelante. En las valoraciones de actividad enzimática casi siempre se emplea un exceso molar grande (10^3 a 10^7) de sustrato sobre enzima. En estas condiciones, v_i es proporcional a la concentración de enzima. Por ende, la medición de la velocidad inicial permite estimar la cantidad de enzima presente en una muestra biológica.

LA CONCENTRACIÓN DE SUSTRATO AFECTA EL ÍNDICE DE REACCIÓN

En lo que sigue, las reacciones enzimáticas se tratan como si sólo tuvieran un sustrato único y un producto único. Para enzimas con múltiples sustratos, los principios que se comentan a continuación se aplican con igual validez. Más aún, al emplear condiciones de seudoprimer orden (véase antes), los científicos pueden estudiar la dependencia del índice de reacción en un reactivo individual por medio de la selección apropiada de sustratos fijos y variables. En otras palabras, en condiciones de seudoprimer orden, la conducta de una enzima con múltiples sustratos imitará a la de una que cuenta sólo con un solo sustrato. Sin embargo, en estas circunstancias, la constante de índice observada estará en función de la constante de índice de k_1 para la reacción, así como la concentración del (o los) sustrato(s) fijo(s).

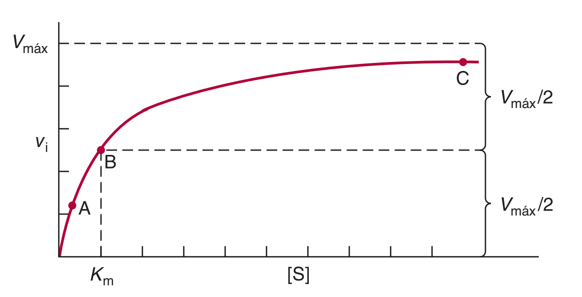


FIGURA 8–4 Efecto de la concentración de sustrato sobre la velocidad inicial de una reacción catalizada por enzima.

Para una enzima típica, a medida que la concentración de sustrato aumenta, v_i se incrementa hasta que alcanza un valor máximo $V_{máx}$ (**figura 8-4**). Cuando los aumentos adicionales de la concentración de sustrato no aumentan más la v_i, se dice que la enzima está "saturada" con sustrato. Note que la forma de la curva que relaciona la actividad con la concentración de sustrato (figura 8-4) es hiperbólica. A cualquier constante dada, sólo las moléculas de sustrato que se combinan con la enzima como un complejo de enzima-sustrato (ES) pueden transformarse en producto. Ya que la constante de equilibrio para la formación del complejo de enzima-sustrato no es infinitamente grande, sólo una fracción de la enzima puede estar presente como un complejo ES, aun cuando el sustrato está presente en exceso (puntos A y B de la **figura 8-5**); por tanto, de los puntos A o B, aumentar o disminuir [S] incrementará o reducirá el número de complejos ES con un cambio correspondiente de v_i. En el punto C (figura 8-5), en esencia toda la enzima está presente como el complejo ES. Dado que no queda enzima libre disponible para formar ES, los aumentos adicionales de [S] no pueden aumentar el índice de la reacción. En estas condiciones de saturación, la v_i depende sólo de —y, de este modo, está limitada por— la rapidez con la cual el producto se disocia de la enzima de modo que logre combinarse con más sustrato.

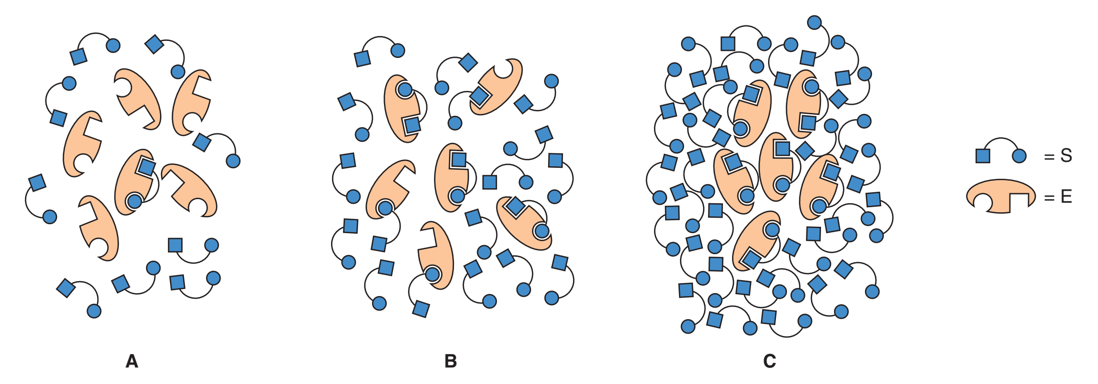


FIGURA 8–5 Representación de una enzima en la presencia de una concentración de sustrato que está por debajo de K_m (A), a una concentración igual a K_m (B), y a una concentración bastante por arriba de K_m (C). Los puntos A, B y C corresponden a esos puntos en la figura 8-4.

LAS ECUACIONES DE MICHAELIS-MENTEN Y DE HILL MODELAN LOS EFECTOS DE LA CONCENTRACIÓN DE SUSTRATO

La ecuación de Michaelis-Menten

La ecuación de Michaelis-Menten (29) ilustra en términos matemáticos la relación entre la velocidad de reacción inicial v_i y la concentración de sustrato [S], que se muestra de manera gráfica en la figura 8-4:

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} \tag{29}$$

La constante K_m de Michaelis es la concentración de sustrato a la cual v_i es la mitad de la velocidad máxima ($V_{máx}/2$) alcanzable a una concentración particular de enzima. De este modo, K_m tiene las dimensiones de la concentración de sustrato. La dependencia de la velocidad de reacción inicial de [S] y K_m puede ilustrarse al evaluar la ecuación de Michaelis-Menten en tres condiciones.

1. Cuando [S] es mucho menor que K_m (punto A en las figuras 8-4 y 8-5), el término K_m + [S] es en esencia igual a la K_m. El remplazo de K_m + [S] con K_m reduce la ecuación (29) a

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} \quad v_i \approx \frac{V_{máx}[S]}{K_m} \approx \left(\frac{V_{máx}}{K_m}\right)[S] \tag{30}$$

donde ≈ significa "aproximadamente igual a". Dado que tanto $V_{máx}$ como K_m son constantes, su proporción es una constante. En otras palabras, cuando [S] está muy por debajo de K_m, v_i es proporcional a k[S]. Por ende, la velocidad de reacción inicial es directamente proporcional a [S].

2. Cuando [S] es mucho mayor que K_m (punto C en las figuras 8-4 y 8-5), el término K_m + [S] es en esencia igual a [S]. Reemplazar K_m + [S] por [S] reduce la ecuación (29) a

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} \quad v_i \approx \frac{V_{máx}[S]}{[S]} \approx V_{máx} \tag{31}$$

De este modo, cuando [S] excede con mucho a K_m, la velocidad de reacción es máxima ($V_{máx}$) y no está afectada por aumentos adicionales de la concentración de sustrato.

3. Cuando [S] = K_m (punto B en las figuras 8-4 y 8-5):

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} = \frac{V_{máx}[S]}{2[S]} = \frac{V_{máx}}{2} \tag{32}$$

La ecuación (32) declara que cuando [S] es igual a K_m, la velocidad inicial es de la mitad del máximo. La ecuación (32) también revela que K_m es —y puede determinarse la manera experimental a partir de— la concentración de sustrato a la cual la velocidad inicial es de la mitad del máximo.

Una forma lineal de la ecuación de Michaelis-Menten se usa para determinar K_m y $V_{máx}$

La medición directa del valor numérico de $V_{máx}$, y, por consiguiente, el cálculo de K_m, a menudo requiere concentraciones altas poco prácticas de sustrato para alcanzar condiciones de saturación. Una forma lineal de la ecuación de Michaelis-Menten evita esta dificultad y permite extrapolar $V_{máx}$ y K_m desde datos de velocidad inicial obtenidos a concentraciones de sustrato menores que las que producen saturación. Se empieza con la ecuación (29),

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} \tag{29}$$

se invierte

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_m + [S]}{V_{máx}[S]} \tag{33}$$

se factoriza

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_m}{V_{máx}[S]} + \frac{[S]}{V_{máx}[S]} \tag{34}$$

y se simplifica

$$\frac{1}{v_i} = \left(\frac{K_m}{V_{máx}}\right)\frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{máx}} \tag{35}$$

La ecuación (35) es la ecuación para una línea recta $y = ax + b$, donde $y = 1/v_i$ y $x = 1/[S]$. Un gráfico de $1/v_i$ en el eje y, expresado como una función de 1/[S] en el eje x, da una línea recta cuya intersección en el eje y se define como $1/V_{máx}$ y la pendiente se define como $K_m/V_{máx}$. Ese gráfico se conoce como **gráfico del doble recíproco** o **de Lineweaver-Burk** (**figura 8-6**). Establecer el término y de la ecuación (36) igual a cero y resolver para x, revela que la intersección x es $-1/K_m$.

$$0 = ax + b; \quad \text{por lo tanto, } x = \frac{-b}{a} = \frac{-1}{K_m} \tag{36}$$

De este modo, K_m se calcula con mayor facilidad a partir de la intersección x negativa.

La mayor virtud del gráfico de Lineweaver-Burk reside en la facilidad con la cual puede usarse para determinar los mecanismos cinéticos de inhibidores de enzima (véase más adelante). Sin embargo, al usar un gráfico del doble recíproco para determinar constantes cinéticas, es importante evitar la introducción de sesgo por la agrupación de datos a valores bajos de 1/[S]. Para evitar el sesgo, se prepara una solución de sustrato cuya dilución hacia una valoración producirá la concentración deseada máxima de sustrato. Ahora se utiliza el mismo volumen de soluciones preparadas al diluir la solución madre por factores de 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, etc. Los datos entonces caerán en el eje 1/[S] a intervalos de 1, 2, 3, 4, 5, etc. De manera alternativa, para minimizar la

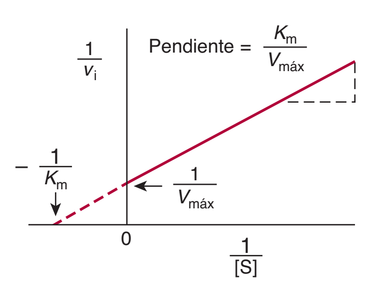


FIGURA 8–6 **Gráfico del doble recíproco o de Lineweaver-Burk de $1/v_i$ en contraposición con 1/[S] usado para evaluar la K_m y $V_{máx}$.**

agrupación puede usarse un gráfico del recíproco único, como el de Eadie-Hofstee (v_i contra v_i/[S]) o de Hanes-Woolf ([S]/v_i contra [S]).

La constante catalítica, k_{cat}

Es factible usar varios parámetros para comparar la actividad relativa de diferentes enzimas o de distintas preparaciones de la misma enzima. La actividad de preparaciones de enzima impuras por lo general se expresa como *actividad específica* ($V_{máx}$ dividida por la concentración de proteína). Para una enzima homogénea es posible calcular su *número de recambio* ($V_{máx}$ dividida por los mol de enzima presentes). Sin embargo, si se conoce el número de sitios activos presentes, la actividad catalítica de una enzima homogénea se expresa mejor como su *constante catalítica,* k_{cat} ($V_{máx}$ dividida por el número de sitios activos, S_t).

$$k_{cat} = \frac{V_{máx}}{S_t} \qquad (37)$$

Dado que las unidades de concentración se anulan, las unidades de k_{cat} son tiempo recíproco.

Eficiencia catalítica, k_{cat}/K_m

¿Mediante qué medida se deben cuantificar y comparar la eficiencia de enzimas diferentes, sustratos diferentes para una enzima dada, y la eficiencia con la cual una enzima cataliza una reacción en las direcciones hacia adelante y hacia atrás? Si bien la capacidad máxima de una enzima dada para convertir sustrato en producto es importante, los beneficios de una k_{cat} alta sólo pueden obtenerse si la K_m es suficientemente baja. De este modo, la *eficiencia catalítica* de enzimas se expresa mejor en términos de la proporción de estas dos constantes cinéticas, k_{cat}/K_m.

Para ciertas enzimas, una vez que el sustrato se une al sitio activo, se convierte en producto y se libera con tanta rapidez como para hacer a estos eventos efectivamente instantáneos. Para estos catalíticos tan eficientes, el paso limitante es la formación del complejo ES. Se dice que esas enzimas están *limitadas por difusión*, o que son perfectas desde el punto de vista catalítico, puesto que el índice de catálisis más rápido posible está determinado por el índice al cual las moléculas se mueven o difunden a través de la solución. Los ejemplos de enzimas para las cuales k_{cat}/K_m se aproxima al límite de difusión de 10^8 a 10^9 $M^{-1}s^{-1}$ incluyen la triosafosfato isomerasa, anhidrasa carbónica, acetilcolinesterasa y adenosina desaminasa.

En células vivas, el montaje de enzimas que catalizan reacciones sucesivas hacia complejos multiméricos puede evitar las limitaciones impuestas por la difusión. Las relaciones geométricas de las enzimas en estos complejos son tales que los sustratos y productos no se difunden hacia la solución de volumen sino hasta que se completa el último paso de la secuencia de pasos catalíticos. La ácido graso sintetasa extiende este concepto un paso más allá al fijar de manera covalente la cadena de ácido graso sustrato en crecimiento a una cadena de biotina que rota de un sitio activo a otro dentro del complejo hasta que se completa la síntesis de una molécula de ácido palmítico (cap. 23).

La K_m puede aproximar una constante de unión

La afinidad de una enzima por su sustrato es la inversa de la constante de disociación K_d para la disociación del complejo de enzima-sustrato ES.

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \qquad (38)$$

$$K_d = \frac{k_{-1}}{k_1} \qquad (39)$$

Dicho de otra manera, mientras *menor* es la tendencia a *disociarse* de la enzima y su sustrato, *mayor* es la afinidad de la enzima por su sustrato. Si bien la constante de Michaelis K_m a menudo aproxima la constante de disociación K_d, esto de ningún modo siempre es así. Para una reacción catalizada por enzima típica,

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} E + P \qquad (40)$$

el valor de [S] que da $v_i = V_{máx}/2$ es

$$[S] = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_m \qquad (41)$$

Cuando $k_{-1} \gg k_2$, entonces

$$k_{-1} + k_2 \approx k_{-1} \qquad (42)$$

y

$$[S] \approx \frac{k_1}{k_{-1}} = K_d \qquad (43)$$

Por ende, $1/K_m$ sólo aproxima $1/K_d$ en condiciones en las cuales la asociación y disociación del complejo ES son rápidas en comparación con la catálisis. Para las muchas reacciones catalizadas por enzima para las cuales $k_{-1} + k_2$ **no** es aproximadamente igual a k_{-1}, $1/K_m$ subestimará $1/K_d$.

La ecuación de Hill describe la conducta de enzimas que muestran unión cooperativa de sustrato

Si bien casi todas las enzimas despliegan la **cinética de saturación** simple descrita en la figura 8-4, y se describen de manera adecuada mediante la expresión de Michaelis-Menten, algunas se unen a sus sustratos de una manera **cooperativa**, análoga a la unión de oxígeno por la hemoglobina (cap. 6). La conducta cooperativa es una propiedad exclusiva de enzimas multiméricas que unen sustrato en múltiples sitios.

Para enzimas que despliegan cooperación positiva en la unión de sustrato, la forma de la curva que relaciona los cambios en v_i con los cambios en [S] es sigmoidea (**figura 8-7**). Ni la expresión de Michaelis-Menten ni sus gráficos derivados pueden usarse para evaluar cinética cooperativa. Por ende, los enzimólogos emplean una representación gráfica de la **ecuación de Hill** que en su origen fue obtenida para describir la unión cooperativa de O_2 por la hemoglobina. La ecuación (44) representa la

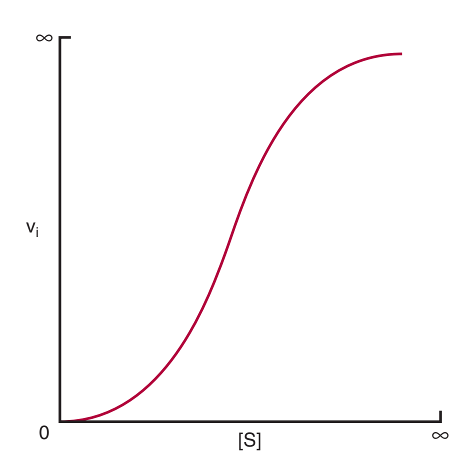


FIGURA 8–7 Representación de cinética de saturación de sustrato sigmoidea.

ecuación de Hill dispuesta en una forma que predice una línea recta, donde k' es una constante compleja:

$$\frac{\log v_i}{V_{\text{máx}} - v_i} = n \log [S] - \log k' \qquad \textbf{(44)}$$

La ecuación (44) declara que cuando [S] es bajo en comparación con k', la velocidad de reacción inicial aumenta como la enésima potencia de [S].

Un gráfico de log $v_i/(V_{\text{máx}} - v_i)$ contra log[S] da una línea recta (**figura 8-8**), donde la pendiente de la línea ***n*** es el **coeficiente de Hill**, y un parámetro empírico cuyo valor está en función del número, la clase y la fuerza de las interacciones de los sitios de unión a sustrato múltiples sobre la enzima. Cuando $n = 1$, todos los sitios de unión se comportan de manera independiente, y se observa conducta cinética de Michaelis-Menten simple. Si n es de más de 1, se dice que la enzima muestra cooperación positiva. La unión de sustrato a un sitio aumenta entonces la afinidad de los sitios restantes para unión a sulfato adicional. Mientras mayor es el valor para n, más alto es el grado de cooperación, y más sigmoideo será el gráfico de v_i contra [S]. Una perpendicular trazada desde el punto donde el término y log $v_i/(V_{\text{máx}} - v_i)$ es cero interseca el eje x en una concentración de sustrato llamada $\mathbf{S_{50}}$, la concentración de sustrato que da por resultado la mitad de la velocidad máxima. De este modo, S_{50} es análoga a la P_{50} para la unión de oxígeno a hemoglobina (cap. 6).

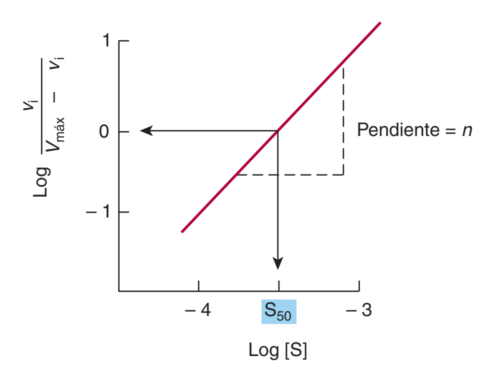


FIGURA 8–8 Representación gráfica de una forma lineal de la ecuación de Hill usada para evaluar S_{50}, la concentración de sustrato que produce la mitad de la velocidad máxima, y el grado de cooperación *n*.

EL ANÁLISIS CINÉTICO DISTINGUE ENTRE INHIBICIÓN COMPETITIVA Y NO COMPETITIVA

Los inhibidores de las actividades catalíticas de enzimas proporcionan tanto agentes farmacológicos como recursos de investigación para estudiar el mecanismo de acción de las enzimas. La fuerza de la interacción entre un inhibidor y una enzima depende de las fuerzas importantes en la estructura de proteína y la unión de ligando (enlaces de hidrógeno, interacciones electrostáticas, interacciones hidrofóbicas y fuerzas de van der Waals; cap. 5). Los inhibidores pueden clasificarse con base en su sitio de acción en la enzima, en si producen modificación química de la enzima, o en los parámetros de cinética sobre los cuales influyen. Los compuestos que imitan el estado de transición de una reacción catalizada por enzima (análogos de estado de transición) o que aprovechan la maquinaria catalítica de una enzima (inhibidores basados en mecanismo) pueden ser inhibidores en particular potentes. Desde el punto de vista cinético, se distinguen dos clases de inhibidores con base en si el aumento de la concentración de sustrato supera o no la inhibición.

Los inhibidores competitivos típicamente semejan sustratos

Los efectos de los inhibidores competitivos pueden superarse al aumentar la concentración de sustrato. Con mayor frecuencia, la inhibición competitiva del inhibidor (**I**) se une a la porción de unión a sustrato del sitio activo, lo que bloquea el acceso por el sustrato. Por ende, las estructuras de casi todos los inhibidores competitivos clásicos tienden a asemejarse a las estructuras de un sustrato y, así, se llaman **análogos de sustrato**. La inhibición de la enzima succinato deshidrogenasa por el malonato ilustra la inhibición competitiva por un análogo de sustrato. La succinato deshidrogenasa cataliza la eliminación de un átomo de hidrógeno de cada uno de los dos carbonos metileno del succinato (**figura 8-9**). Tanto el succinato como su análogo estructural malonato ($^{-}OOC—CH_2—COO^{-}$) pueden unirse al sitio activo de la succinato deshidrogenasa, lo que forma un complejo ES o uno EI, respectivamente. Sin embargo, dado que el malonato sólo contiene un átomo de metileno, no puede pasar por

Succinato —(−2H; Succinato deshidrogenasa)→ Fumarato

FIGURA 8–9 Reacción de succinato deshidrogenasa.

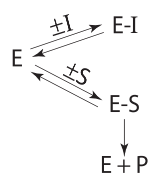
deshidrogenación. La formación y disociación del complejo EI es un proceso dinámico descrito por

$$\mathrm{E-I} \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} \mathrm{E+I} \qquad \textbf{(45)}$$

para la cual la constante de equilibrio K_i es

$$K_i = \frac{[\mathrm{E}][\mathrm{I}]}{[\mathrm{E-I}]} = \frac{k_i}{k_{-i}} \qquad \textbf{(46)}$$

En efecto, un **inhibidor competitivo actúa al disminuir el número de moléculas de enzima libres disponibles para unión a sustrato, esto es, para formar ES y, así, finalmente para formar producto**, como se describe a continuación:



Un inhibidor competitivo y sustrato ejercen efectos recíprocos sobre la concentración de los complejos EI y ES. Dado que la formación de complejos ES elimina enzima libre disponible para combinarse con el inhibidor, el aumento de [S] disminuye la concentración del complejo EI y aumenta la velocidad de reacción.

El grado al cual [S] debe aumentarse para superar por completo la inhibición depende de la concentración del inhibidor presente, su afinidad por la enzima, K_i, y la afinidad, K_m, de la enzima por su sustrato.

Los gráficos del doble recíproco facilitan la evaluación de inhibidores

Los gráficos del doble recíproco distinguen entre inhibidores competitivos y no competitivos, y simplifican la evaluación de constantes de inhibición. v_i se determina a varias concentraciones de sustrato tanto en presencia como en ausencia de inhibidor. Para la inhibición competitiva clásica, las líneas que conectan los puntos experimentales convergen en el eje *y* (**figura 8-10**). Dado que la intersección *y* es igual a $1/V_{máx}$, este modelo indica que **cuando 1/[S] se aproxima a 0, v_i es independiente de la presencia de inhibidor**. Sin embargo, note que la intersección en el eje *x* no varía con la concentración del *inhibidor* y que puesto que $-1/K'_m$ es de menor tamaño que $1/K_m$, K'_m (la "K_m aparente"), se hace más grande en presencia de concentraciones cada vez mayores del inhibidor. De este modo, **un inhibidor competitivo no tiene efecto sobre $V_{máx}$ pero aumenta K'_m, la K_m aparente para el sustrato**. Para la inhibición competitiva simple, la intersección en el eje *x* es

$$x = \frac{-1}{K_m}\left(1 + \frac{[\mathrm{I}]}{K_i}\right) \qquad \textbf{(47)}$$

Una vez que K_m se ha determinado en ausencia de inhibidor, K_i puede calcularse a partir de la ecuación (47). Los valores de K_i se usan para comparar diferentes inhibidores de la misma enzima. Mientras más bajo es el valor para K_i, más eficaz es el inhibidor. Por ejemplo, los fármacos estatina que actúan como inhibidores competitivos de la HMG-CoA reductasa (cap. 26) tienen valores de K_i de varios órdenes de magnitud más bajos que la K_m para el sustrato HMG-CoA.

Los inhibidores no competitivos simples disminuyen $V_{máx}$ pero no afectan K_m

En la inhibición no competitiva estricta, la unión del inhibidor no afecta la unión de sustrato; por ende, es factible la formación de complejos tanto EI como EIS. Sin embargo, si bien el complejo inhibidor de enzima aún puede unirse a sustrato, su eficiencia para transformar sustrato en producto, reflejada por $V_{máx}$, está disminuida. Los inhibidores no competitivos unen enzimas en sitios distintos del sitio de unión a sustrato y por lo general muestran poca o ninguna semejanza estructural con el sustrato.

Para la inhibición no competitiva simple, E y EI poseen afinidad idéntica por el sustrato, y el complejo EIS genera producto a un índice insignificante (**figura 8-11**). La inhibición no competitiva más compleja ocurre cuando la unión del inhibidor *afecta* la afinidad aparente de la enzima por el sustrato, lo que hace que las líneas se intersequen en el tercer o cuarto cuadrante de un gráfico del doble recíproco (que no se muestra). Si bien ciertos inhibidores muestran características de una mezcla de inhibición competitiva y no competitiva, su evaluación va más allá del objetivo de este capítulo.

FIGURA 8–10 Gráfico de Lineweaver-Burk de inhibición competitiva simple. Note la completa distensión de inhibición a [S] alta (esto es, 1/[S] baja).

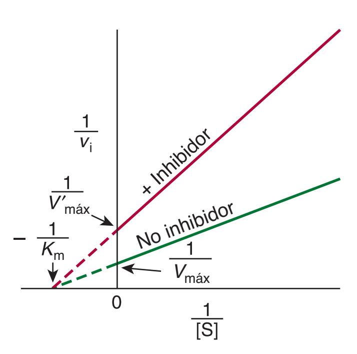


FIGURA 8–11 Gráfico de Lineweaver-Burk para inhibición no competitiva simple.

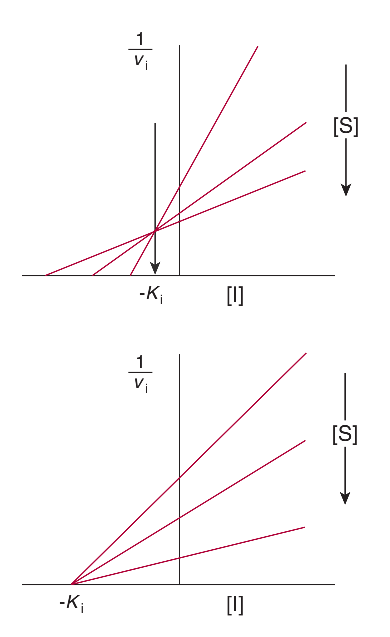


FIGURA 8–12 Aplicaciones de los gráficos de Dixon. Arriba: inhibición competitiva, estimación de K_i. Abajo: inhibición no competitiva, estimación de K_i.

Gráfico de Dixon

A veces se emplea como una alternativa para el gráfico de Lineweaver-Burk, para determinar constantes de inhibición. La velocidad inicial (v_i) se mide a varias concentraciones de inhibidor, pero a una concentración fija de sustrato (S). Para un inhibidor competitivo o no competitivo simple, un gráfico de $1/v_i$ contra la concentración del inhibidor [I] da una línea recta. El experimento se repite a diferentes concentraciones fijas de sustratos. El conjunto de líneas resultantes interseca a la izquierda del eje *y*. Para inhibición *competitiva*, una perpendicular trazada hacia el eje *x* desde el punto de intersección de las líneas da $-K_i$ (**figura 18-12**, arriba). Para inhibición *no competitiva* la intersección del eje *x* es $-K_i$ (**figura 8-12**, abajo). En las publicaciones farmacéuticas a menudo se emplean gráficos de Dixon para ilustrar la potencia comparativa de inhibidores competitivos.

IC_{50}

Una alternativa menos rigurosa, para K_i como una medida de la potencia inhibidora es la concentración de inhibidor que produce inhibición de 50%, $\mathbf{IC_{50}}$. Al contrario de la constante de disociación de equilibrio K_i, el valor numérico de IC_{50} varía en función de las circunstancias específicas de la concentración de sustratos, etc., bajo la cual se determina.

Inhibidores estrechamente unidos

Algunos inhibidores se unen a enzimas con afinidad tan alta, $K_i \leq 10^{-9}$ M, que la concentración de inhibidor requerida para medir K_i cae por debajo de la concentración de enzima típicamente presente en una valoración. En estas circunstancias, una fracción importante del inhibidor total puede estar presente como un complejo EI. De ser así, esto viola la suposición, implícita en cinética de estado estable clásica, de que la concentración de inhibidor libre es independiente de la concentración de enzima. El análisis cinético de estos inhibidores muy unidos requiere ecuaciones cinéticas especializadas que incorporan la concentración de enzima para estimar K_i o IC_{50}, y para distinguir entre inhibidores competitivos y no competitivos estrechamente unidos.

Los inhibidores irreversibles "envenenan" enzimas

En los ejemplos anteriores, los inhibidores forman un complejo disociable, dinámico, con la enzima; por ende, la enzima por completo activa puede recuperarse con tan sólo eliminar el inhibidor del medio circundante. Sin embargo, varios otros inhibidores actúan de manera irreversible al producir modificación química de la enzima. Estas modificaciones por lo general comprenden hacer o romper enlaces covalentes con residuos aminoacilo esenciales para la unión a sustrato, catálisis o mantenimiento de la conformación funcional de la enzima. Dado que estos cambios covalentes son hasta cierto punto estables, una enzima que ha sido "envenenada" por un inhibidor irreversible, como un átomo de metal pesado o un reactivo acilante, permanece inhibida incluso después de eliminar del medio circundante el inhibidor que resta.

Inhibición basada en mecanismo

Los inhibidores "basados en mecanismo" o "suicidas" son análogos de sustrato especializados que contienen un grupo químico que puede transformarse mediante la maquinaria catalítica de la enzima blanco. Después de la unión al sitio activo, la catálisis por la enzima genera un grupo muy reactivo que forma un enlace covalente con **un residuo esencial desde el punto de vista catalítico, y bloquea la función del mismo**. La especificidad y la persistencia de inhibidores suicidas, que son tanto específicos para enzima como no reactivos fuera de los confines del sitio activo de la enzima, los hacen promisorios para la creación de fármacos específicos para enzima. El análisis cinético de inhibidores suicidas está más allá del objetivo de este capítulo. Ni el método de Lineweaver-Burk ni el de Dixon son aplicables porque los inhibidores suicidas violan una condición limítrofe clave común a ambos métodos, a saber, que la actividad de la enzima no disminuye en el transcurso de la valoración.

CASI TODAS LAS REACCIONES CATALIZADAS POR ENZIMA COMPRENDEN DOS O MÁS SUSTRATOS

Si bien muchas enzimas tienen un sustrato único, muchas otras tienen dos —y a veces más— sustratos y productos. Los principios fundamentales, antes comentados, si bien se ilustran para enzimas con un sustrato único, también aplican a enzimas con múltiples sustratos. Sin embargo, las expresiones matemáticas utilizadas para evaluar reacciones de múltiples sustratos son complejas. Aun cuando un análisis detallado del rango completo de reacciones de múltiples sustratos va más allá del objetivo de este capítulo, a continuación se consideran algunos aspectos

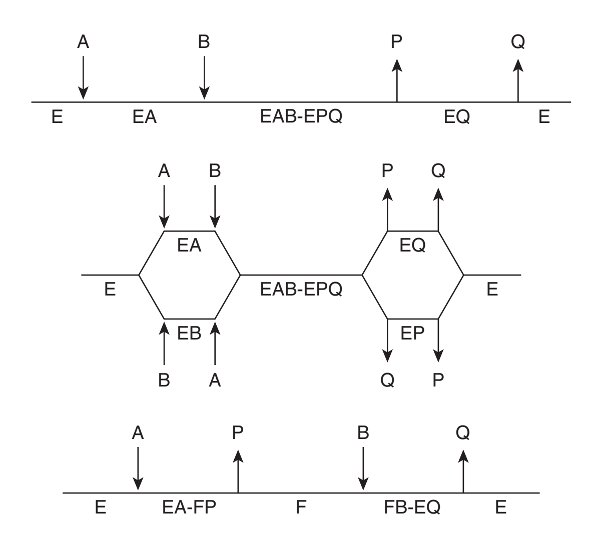


FIGURA 8–13 Representaciones de tres clases de mecanismos de reacción Bi-Bi. Las líneas horizontales representan la enzima. Las flechas indican la adición de sustratos y la salida de productos. Arriba: una reacción Bi-Bi ordenada, característica de muchas oxidorreductasas dependientes de NAD(P)H. Centro: una reacción Bi-Bi al azar, característica de muchas cinasas y algunas deshidrogenasas. Abajo: una reacción de ping-pong, característica de aminotransferasas y serina proteasas.

comunes de conducta cinética para reacciones de dos sustratos y dos productos (llamadas reacciones "Bi-Bi").

Reacciones secuenciales o de desplazamiento único

En **reacciones secuenciales**, ambos sustratos deben combinarse con la enzima para formar un complejo ternario antes de que pueda proceder la catálisis (**figura 8-13**, arriba). Las reacciones secuenciales a veces reciben el nombre de reacciones de desplazamiento único porque el grupo que se está transfiriendo por lo general pasa de manera directa, en un solo paso, desde un sustrato hacia el otro. Las reacciones Bi-Bi secuenciales pueden distinguirse más con base en si los dos sustratos se agregan en un orden **al azar** o en uno **forzoso**. Para reacciones de orden al azar, el sustrato A o el B puede combinarse primero con la enzima para formar un complejo EA o uno EB (**figura 8-13**, centro). En reacciones de orden forzoso, A debe combinarse primero con E antes de que B pueda combinarse con el complejo EA. Una explicación por la cual algunas enzimas emplean mecanismos de orden forzoso puede encontrarse en la hipótesis de la adaptación inducida de Koshland: la adición de A induce un cambio de conformación en la enzima que alinea residuos que reconocen B y se unen al mismo.

Reacciones de ping-pong

El término **"ping-pong"** aplica a mecanismos en los cuales uno o más productos son liberados desde la enzima antes de que se hayan añadido todos los sustratos. Las reacciones de ping-pong comprenden catálisis covalente y una forma transitoria, modificada, de la enzima (figura 7-4). Las reacciones Bi-Bi de ping-pong son **reacciones de doble desplazamiento**. El grupo que se transfiere primero es desplazado del sustrato A por la enzima para formar productos P y una forma modificada de la enzima (F). La transferencia de grupo subsiguiente desde F hacia el segundo sustrato B, que forma el producto Q y regenera E, constituye el segundo desplazamiento (**figura 8-13**, abajo).

Casi todas las reacciones Bi-Bi se conforman a la cinética de Michaelis-Menten

Casi todas las reacciones Bi-Bi se conforman a una forma un poco más compleja de cinética de Michaelis-Menten en la cual $V_{máx}$ se refiere al índice de reacción que se alcanza cuando ambos sustratos están presentes a concentraciones que producen saturación. Cada sustrato tiene su propio valor K_m característico, que corresponde a la concentración que da la mitad de la velocidad máxima cuando el segundo sustrato está presente a concentraciones que producen saturación. Al igual que para las reacciones de un solo sustrato, pueden usarse gráficos del doble recíproco para determinar $V_{máx}$ y K_m. v_i se mide como una función de la concentración de un sustrato (el sustrato variable), mientras que la concentración del otro sustrato (el sustrato fijo) se mantiene constante. Si las líneas obtenidas para varias concentraciones de sustrato fijo se grafican en el mismo gráfico, es posible distinguir entre un mecanismo ping-pong, que da líneas paralelas (**figura 8-14**), y un mecanismo secuencial, que da un modelo de líneas que se intersecan (no mostrado).

Los **estudios de inhibición del producto** se usan para complementar análisis cinéticos y distinguir entre reacciones Bi-Bi ordenadas y al azar. Por ejemplo, en una reacción Bi-Bi ordenada al azar, cada producto será un inhibidor competitivo en ausencia de sus coproductos al margen de cuál sustrato es designado como el sustrato variable. Sin embargo, para un mecanismo secuencial (figura 8-13, arriba), sólo el producto Q dará el modelo indicativo de inhibición competitiva cuando A es el sustrato variable, mientras que sólo el producto P producirá este modelo con B como el sustrato variable. Otras combinaciones de inhibidor del producto y sustrato variable producirán formas de inhibición no competitiva compleja.

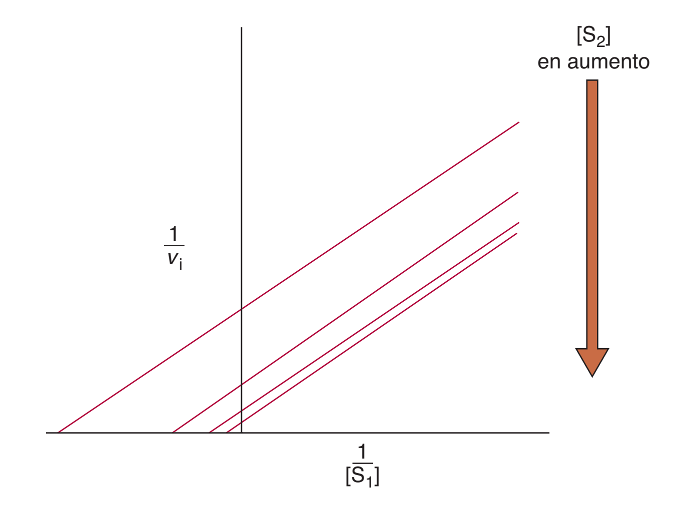


FIGURA 8–14 Gráfico de Lineweaver-Burk para una reacción de ping-pong de dos sustratos. Un aumento de la concentración de un sustrato (S_1) mientras que de la del otro sustrato (S_2) se mantiene constante, cambia las intersecciones *x* y *y*, no así la pendiente.

EL CONOCIMIENTO DE LA CINÉTICA, EL MECANISMO Y LA INHIBICIÓN DE ENZIMAS, AYUDA A LA CREACIÓN DE FÁRMACOS

Muchos fármacos actúan como inhibidores de enzimas

El objetivo de la farmacología es identificar agentes que pueden

1. Destruir o alterar el crecimiento, la invasividad o el desarrollo de agentes patógenos invasores.
2. Estimular mecanismos de defensa endógenos.
3. Suspender u obstaculizar procesos moleculares aberrantes desencadenados por estímulos genéticos, ambientales o biológicos, con perturbación mínima de las funciones celulares normales del huésped.

En virtud de sus diversas funciones fisiológicas y alto grado de selectividad de sustrato, las enzimas constituyen blancos naturales para la creación de fármacos que son tanto potentes como específicos. Los fármacos estatina, por ejemplo, disminuyen la producción de colesterol al inhibir la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (cap. 26), mientras que la emtricitabina y el tenofovir disoproxil fumarato bloquean la replicación del HIV al inhibir una inverso transcriptasa viral (cap. 34). La farmacoterapia de la hipertensión a menudo incluye la administración de un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, lo que disminuye la concentración de angiotensina II, un vasoconstrictor (cap. 42).

La cinética enzimática define condiciones de investigación apropiadas

La cinética enzimática tiene un papel crucial en el descubrimiento de fármacos. El conocimiento de la conducta cinética de la enzima de interés se necesita, ante todo, para seleccionar condiciones de valoración apropiadas que detectan con facilidad la presencia de un inhibidor. La concentración de sustrato, por ejemplo, debe ajustarse de modo que se genere suficiente producto para permitir la detección fácil de actividad de la enzima sin que sea tan alta que enmascare la presencia de un inhibidor. En segundo lugar, la cinética enzimática proporciona el medio para cuantificar y comparar la potencia de diferentes inhibidores y definir su modo de acción. Los inhibidores no competitivos son en particular deseables, porque —en contraste con los competitivos— sus efectos nunca pueden superarse por completo mediante incrementos de la concentración de sustrato.

La mayoría de los fármacos se metabolizan *in vivo*

La creación de fármacos a menudo comprende más que la evaluación cinética de la interacción de inhibidores con la enzima blanco. Enzimas presentes en el paciente o en el agente patógeno actúan sobre fármacos, proceso llamado **metabolismo de fármaco**. Por ejemplo, la penicilina y otros antibióticos β-lactámicos bloquean la síntesis de la pared celular en bacterias al envenenar de manera irreversible la enzima alanil alanina carboxipeptidasa-transpeptidasa. Sin embargo, muchas bacterias producen β-lactamasas que hidrolizan la función β-lactámica crucial en la penicilina y fármacos relacionados. Una estrategia para superar la resistencia a antibiótico resultante es administrar de manera simultánea un inhibidor de β-lactamasa y un antibiótico β-lactámico.

También se requiere a veces de transformación metabólica para convertir un precursor farmacológico inactivo, o **profármaco**, en su forma biológicamente activa (cap. 53). El ácido 2'-desoxi-5-fluorouridílico, un potente inhibidor de la timidilato sintasa, un blanco común de la quimioterapia de cáncer, se produce a partir de 5-fluorouracilo por medio de una serie de transformaciones enzimáticas catalizadas por una fosforribosil transferasa y las enzimas de la vía de salvamento de desoxirribonucleósido (cap. 33). El diseño y la administración eficaces de profármacos requieren conocimiento de la cinética y de los mecanismos de las enzimas encargadas de transformarlos en sus formas biológicamente activas.

RESUMEN

- El estudio de la cinética enzimática —los factores que afectan los índices de reacciones catalizadas por enzima— revela los pasos individuales mediante los que las enzimas transforman sustratos en productos.
- La ΔG, el cambio general de la energía libre para una reacción, es independiente del mecanismo de reacción, y no proporciona información respecto a los *índices* de reacciones.
- La K_{eq} es una proporción de *constantes de índice* de reacción, se calcula a partir de las concentraciones de sustratos y productos en equilibrio, o a partir de la proporción k_1/k_{-1}. Las enzimas no afectan la K_{eq}.
- Las reacciones proceden por medio de estados de transición en los cuales ΔG_F es la energía de activación. La temperatura, la concentración de ion hidrógeno, la concentración de enzima, la concentración de sustrato, y los inhibidores, afectan los índices de reacciones catalizadas por enzima.
- En la medición del índice de una reacción catalizada por enzima por lo general se emplean condiciones de índice iniciales, para las cuales la ausencia virtual de producto impide la reacción inversa.
- Las formas lineales de la ecuación de Michaelis-Menten simplifican la determinación de K_m y $V_{máx}$.
- Una forma lineal de la ecuación de Hill se usa para evaluar la cinética de unión a sustrato cooperativa mostrada por algunas enzimas multiméricas. La pendiente *n*, el coeficiente de Hill, refleja el número, la naturaleza y la fuerza de las interacciones de los sitios de unión a sustrato. Un valor de *n* de más de 1 indica cooperación positiva.
- Los efectos de inhibidores competitivos simples, que por lo general semejan sustratos, se superan al aumentar la concentración del sustrato. Los inhibidores no competitivos simples disminuyen la $V_{máx}$ pero no afectan la K_m.
- Para inhibidores competitivos y no competitivos simples, la constante inhibitoria K_i es igual a la constante de disociación de equilibrio para el complejo de enzima-inhibidor relevante. Un término más simple y menos riguroso para evaluar la eficacia de un inhibidor es la IC_{50}, la concentración del inhibidor que produce inhibición de 50% en las circunstancias particulares del experimento.

- Los sustratos pueden añadirse en un orden al azar (cualquier sustrato puede combinarse primero con la enzima) y en un orden forzoso (el sustrato A debe unirse antes que el sustrato B).
- En reacciones de ping-pong, uno o más productos se liberan a partir de la enzima antes de que se hayan añadido todos los sustratos.
- La cinética enzimática aplicada facilita la identificación y caracterización de fármacos que inhiben de manera selectiva enzimas específicas. De este modo, la cinética enzimática desempeña una función central y crucial en el descubrimiento de fármacos, en la farmacodinámica comparativa, y en la determinación del modo de acción de fármacos.

REFERENCIAS

Cook PF, Cleland WW: *Enzyme Kinetics and Mechanism.* Garland Science, 2007.
Copeland RA: *Evaluation of Enzyme Inhibitors in Drug Discovery.* John Wiley & Sons, 2005.
Cornish-Bowden A: *Fundamentals of Enzyme Kinetics.* Portland Press Ltd, 2004.
Dixon M: The determination of enzyme inhibitor constants. Biochem J 1953;55:170.
Dixon M: The graphical determination of K_m and K_i. Biochem J 1972;129:197.
Fersht A: *Structure and Mechanism in Protein Science: A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding.* Freeman, 1999.
Fraser CM, Rappuoli R: Application of microbial genomic science to advanced therapeutics. Annu Rev Med 2005;56:459.
Henderson PJF: A linear equation that describes the steady-state kinetics of enzymes and subcellular particles interacting with tightly bound inhibitors. Biochem J 1972;127:321.
Schramm, VL: Enzymatic transition-state theory and transition-state analogue design. J Biol Chem 2007;282:28297.
Schultz AR: *Enzyme Kinetics: From Diastase to Multi-enzyme Systems.* Cambridge University Press, 1994.
Segel IH: *Enzyme Kinetics.* Wiley Interscience, 1975.
Wlodawer A: Rational approach to AIDS drug design through structural biology. Annu Rev Med 2002;53:595.

C A P Í T U L O

9

Enzimas: regulación de actividades

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

O B J E T I V O S

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar el concepto de la homeostasis de todo el cuerpo, y su respuesta a fluctuaciones en el ambiente externo.
- Comentar por qué las concentraciones celulares de sustratos para casi todas las enzimas tienden a estar cerca de la K_m.
- Listar múltiples mecanismos mediante los cuales se logra el control activo del flujo de metabolitos.
- Describir las ventajas de que ciertas enzimas se elaboren como proenzimas.
- Ilustrar los eventos fisiológicos que desencadenan la conversión de una proenzima en la enzima activa correspondiente.
- Describir los cambios estructurales típicos que acompañan a la conversión de una proenzima en la enzima activa.
- Describir las características básicas de un sitio de unión típico para metabolitos y segundos mensajeros que regulan la actividad catalítica de ciertas enzimas.
- Indicar dos maneras generales en las cuales un efector alostérico puede modificar la actividad catalítica.
- Esbozar los papeles de las proteína cinasas, proteína fosfatasas, y de mensajeros reguladores y hormonales y segundos mensajeros en el inicio de un proceso metabólico.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El fisiólogo del siglo XIX Claudio Bernard enunció la base conceptual para la regulación metabólica. Observó que los organismos vivos responden de modos apropiados desde los puntos de vista tanto cuantitativo como temporal para permitirles sobrevivir a los múltiples desafíos planteados por cambios de sus ambientes externo e interno. Después, Walter Cannon acuñó el término "homeostasis" para describir la capacidad de los animales para mantener un ambiente intracelular constante a pesar de los cambios en su ambiente externo. Ahora se sabe que los organismos responden a cambios en sus ambientes externo e interno por medio de ajustes equilibrados y coordinados de los índices de reacciones metabólicas específicas. Las perturbaciones de la maquinaria de respuesta a detector de la cual depende el mantenimiento del equilibrio homeostático, pueden ser nocivas para la salud de seres humanos. El cáncer, la diabetes, la fibrosis quística y la enfermedad de Alzheimer, por ejemplo, se caracterizan por disfunciones de la regulación desencadenadas por agentes patógenos o mutaciones genéticas. Muchos virus oncogénicos elaboran proteína-tirosina cinasas que modifican los eventos reguladores que controlan los modelos de expresión de gen, lo que contribuye al inicio de cáncer y la progresión del mismo. La toxina de *Vibrio cholerae,* el agente causal del cólera, inhabilita vías de respuesta a detector en las células del epitelio intestinal al producir ADP-ribosilación de las proteínas de unión a GTP (proteínas G) que enlazan receptores de superficie celular a la adenilil ciclasa. La activación consiguiente de la ciclasa conduce al flujo irrestricto de agua hacia los intestinos, lo que da por resultado diarrea masiva y deshidratación. *Yersinia pestis,* el agente causal de la peste, elabora una proteína-tirosina fosfatasa que hidroliza grupos fosforilo en proteínas clave del citoesqueleto. Se cree que las disfunciones en los sistemas proteolíticos de los cuales depende la degradación de proteínas defectuosas o anormales, participan en enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer y la de Parkinson. Además de su función inmediata como reguladores de la actividad enzimática, la degradación de proteína, etc., las modificaciones covalentes, como la fosforilación, acetilación y ubiquitinación, proporcionan un código basado en proteína para el almacenamiento de información y la transmisión hereditaria de la misma (cap. 35). Esos sistemas de información dependientes de DNA se denominan **epigenéticos**. De esta manera, el conocimiento de los factores que controlan los índices de reacciones catalizadas por enzima es esencial para un

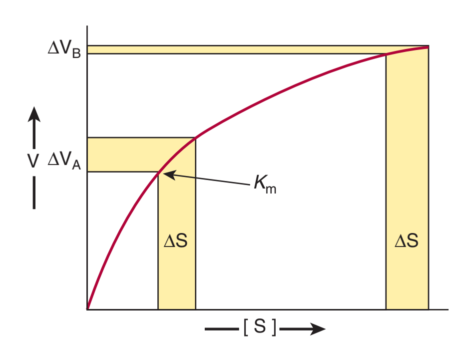


FIGURA 9–1 Respuesta diferencial del índice de una reacción catalizada por enzima, Δ*V*, al mismo cambio creciente de la concentración de sustrato, a una concentración de sustrato de K_m (ΔV_A) o muy por arriba de la K_m (ΔV_B).

entendimiento de la base molecular de la enfermedad y su transmisión. Este capítulo esboza los modelos mediante los cuales se controlan los procesos metabólicos y proporciona ejemplos ilustrativos. Los capítulos subsiguientes ofrecen más ejemplos.

LA REGULACIÓN DEL FLUJO DE METABOLITOS PUEDE SER ACTIVA O PASIVA

Las enzimas que operan a su índice máximo no pueden mostrar respuesta a un aumento de la concentración de sustrato, y sólo pueden hacerlo a una disminución precipitada de la misma. En consecuencia, los valores de K_m para casi todas las enzimas tienden a ser cercanos a la concentración intracelular promedio de sus sustratos, de modo que los cambios de la concentración de sustrato generan cambios correspondientes del flujo de metabolitos (**figura 9-1**). Las respuestas a cambios de la concentración de sustrato representan un medio importante pero *pasivo* para coordinar el flujo de metabolitos y mantener la homeostasis en células quiescentes. Sin embargo, ofrecen un alcance limitado para mostrar respuesta a cambios en variables ambientales. A continuación se comentan los mecanismos que regulan la eficiencia de las enzimas de una manera *activa* en respuesta a señales internas y externas.

El flujo de metabolitos tiende a ser unidireccional

Pese a la existencia de oscilaciones a corto plazo de las concentraciones de metabolitos y de enzimas, las células vivas existen en un estado estable dinámico en el cual las concentraciones medias de intermediarios metabólicos permanecen relativamente constantes con el tiempo. Aun cuando todas las reacciones químicas son hasta cierto grado reversibles, en las células vivas los productos de reacción sirven como sustratos para —y son eliminados por— otras reacciones catalizadas por enzima (**figura 9-2**). De este modo, muchas reacciones nominalmente reversibles ocurren de manera unidireccional. Tal sucesión de reacciones metabólicas acopladas se acompaña de un cambio general de la energía libre que favorece el flujo unidireccional de metabolitos (cap. 11). El flujo unidireccional de metabolitos a través de una vía con un cambio negativo general grande en energía libre es

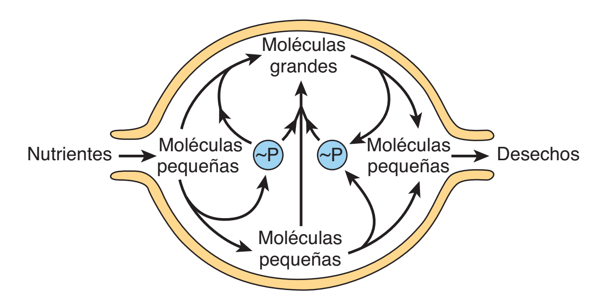


FIGURA 9–2 Célula idealizada en estado estable. Note que el flujo de metabolitos es unidireccional.

análogo al flujo de agua a través de una tubería en la cual un extremo está más bajo que el otro. Las flexiones o los acodamientos en la tubería simulan pasos individuales catalizados por enzima con un cambio negativo o positivo pequeño de la energía libre. Empero, el flujo de agua a través de la tubería permanece unidireccional debido al cambio general de altura, que corresponde al cambio general de la energía libre en una vía (**figura 9-3**).

LA COMPARTIMENTALIZACIÓN ASEGURA EFICIENCIA METABÓLICA Y SIMPLIFICA LA REGULACIÓN

En eucariotas, las vías anabólicas y catabólicas que interconvierten productos comunes pueden tener lugar en compartimientos subcelulares específicos. Por ejemplo, muchas de las enzimas que degradan proteínas y polisacáridos residen dentro de organelos denominados lisosomas. De modo similar, la biosíntesis de ácidos grasos ocurre en el citosol, mientras que la oxidación de ácidos grasos tiene lugar dentro de las mitocondrias (caps. 22 y 23). La segregación de ciertas vías metabólicas dentro de tipos de células especializados puede proporcionar compartimentalización física adicional.

Afortunadamente, muchas vías al parecer antagonistas pueden coexistir en ausencia de barreras físicas, siempre y cuando la termodinámica dicte que cada una procede con la formación de uno o más *intermediarios únicos.* Para cualquier reacción o serie de reacciones, el cambio de la energía libre que tiene lugar cuando el flujo de metabolitos procede en la dirección "anterógrada" es de igual magnitud *pero de signo opuesto* al que se requiere para

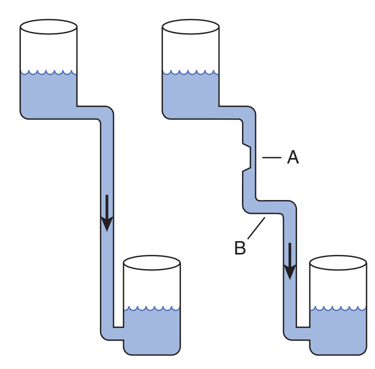


FIGURA 9–3 Analogía hidrostática para una vía con un paso limitante (A) y un paso con un valor de Δ*G* cercano a cero (B).

proceder en la dirección inversa. Algunas enzimas dentro de estas vías catalizan reacciones, como isomerizaciones, que pueden actuar como catalíticos bidireccionales *in vivo* porque la diferencia de energía libre entre sustratos y productos es cercana a cero. Sin embargo, representan la excepción más que la regla. Casi todas las vías metabólicas proceden por medio de uno o más pasos para los cuales ΔG es importante. Por ejemplo, la glucólisis, la desintegración de glucosa para formar dos moléculas de piruvato, tiene un ΔG general favorable de −96 kJ/mol, un valor demasiado grande para simplemente operar en "reversa" cuando se desea convertir piruvato excesivo en glucosa. En consecuencia, la gluconeogénesis procede por medio de una vía en la cual los tres pasos más energéticamente desfavorecidos de la glucólisis son remplazados por reacciones nuevas catalizadas por enzimas separadas (cap. 20).

La capacidad de las enzimas para distinguir entre las coenzimas similares desde el punto de vista estructural NAD^+ y $NADP^+$ también da lugar a una forma de compartimentalización. Las formas reducidas de ambas coenzimas no son fácilmente distinguibles. Sin embargo, las reacciones que generan y más tarde consumen electrones que están destinados para la generación de ATP están segregadas en el NADH, lejos de las que se usan en los pasos reductivos de muchas vías biosintéticas, que son portadas por el NADPH.

El control de una enzima que cataliza una reacción limitante regula una vía metabólica completa

Si bien el flujo de metabolitos a través de vías metabólicas incluye catálisis por muchas enzimas, el control activo de la homeostasis se logra por medio de regulación de únicamente un subgrupo selecto de estas enzimas. La enzima ideal para intervención reguladora es aquella cuya cantidad o eficiencia catalítica dicta que la reacción que cataliza sea lenta en comparación con todas las otras en la vía. Por ende, el decremento de la eficiencia catalítica o de la cantidad del catalítico para la **reacción limitante de la velocidad** reduce de inmediato el flujo de metabolitos por toda la vía. A la inversa, un incremento de su cantidad o eficiencia catalítica aumenta el flujo a través de la vía en conjunto. Por ejemplo, la acetil-CoA carboxilasa cataliza la síntesis de malonil-CoA, la primera reacción comprometida de la biosíntesis de ácidos grasos (cap. 23). Cuando se inhibe la síntesis de malonil-CoA, las reacciones subsiguientes de la síntesis de ácidos grasos cesan por falta de sustratos. Como "rectoras" naturales del flujo metabólico, las enzimas que catalizan pasos limitantes constituyen blancos eficientes para intervención reguladora mediante fármacos. Así, por ejemplo, los fármacos "estatina" reducen la síntesis de colesterol al inhibir la HMG-CoA reductasa, que cataliza la reacción limitante de la colesterogénesis.

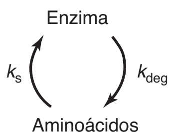
REGULACIÓN DE LA CANTIDAD DE ENZIMA

La capacidad catalítica de la reacción limitante en una vía metabólica es el producto de la concentración de moléculas de enzima y su eficiencia catalítica intrínseca. Por ende, resulta que la capacidad catalítica puede influir tanto al cambiar la cantidad de enzima presente como al alterar su eficiencia catalítica intrínseca.

Las proteínas se sintetizan y degradan de manera continua

Al medir los índices de incorporación de los aminoácidos ^{15}N marcados hacia proteínas, y los índices de pérdida de ^{15}N desde proteína, Schoenheimer dedujo que las proteínas del cuerpo se encuentran en un estado de "equilibrio dinámico" en el cual se están sintetizando y degradando de manera continua, proceso llamado **recambio de proteína**. Esto sigue siendo válido incluso para las proteínas que están presentes a una concentración de estado estable en esencia constante, o **constitutiva**. Por otro lado, las concentraciones de muchas enzimas están influidas por una amplia gama de factores fisiológicos, hormonales o de la dieta.

La cantidad absoluta de una enzima refleja el balance neto entre sus índices de síntesis y de degradación. En seres humanos, las alteraciones de las cifras de enzimas específicas pueden estar afectadas por un cambio de la constante de índice para los procesos generales de síntesis (k_s), degradación (k_{deg}), o ambos.



Control de la síntesis de enzima

La síntesis de ciertas enzimas depende de la presencia de **inductores**, típicamente sustratos o compuestos relacionados desde el punto de vista estructural que estimulan la transcripción del gen que las codifica (caps. 36 y 37). Por ejemplo, *Escherichia coli* cultivada en glucosa sólo cataboliza lactosa luego de adición de un β-galactósido, un inductor que inicia la síntesis de una beta-galactosidasa y una galactósido permeasa (figura 38-3). Las enzimas inducibles de seres humanos comprenden la triptófano pirrolasa, treonina deshidratasa, tirosina-α-cetoglutarato aminotransferasa, enzimas del ciclo de la urea, HMG-CoA reductasa y citocromo P450. A la inversa, un exceso de un metabolito puede restringir la síntesis de su enzima cognada por medio de **represión**. Tanto la inducción como la represión implican elementos *cis,* secuencias de DNA específicas localizadas torrente arriba de genes regulados, y proteínas reguladoras que transactúan. Los mecanismos moleculares de la inducción y represión se comentan en el capítulo 38. La síntesis de otras enzimas puede estimularse mediante la interacción de hormonas y otras señales extracelulares con receptores de superficie específicos de célula. En el capítulo 42 se presenta información detallada sobre el control de la síntesis de proteína en respuesta a estímulos hormonales.

Control de la degradación de enzima

En animales, muchas proteínas se degradan por medio de la vía de la ubiquitina-proteasoma, cuyo descubrimiento les valió un Premio Nobel a Aaron Ciechanover, Avram Hershko e Irwin Rose. La degradación ocurre en el proteasoma 26S, un complejo

macromolecular grande constituido por más de 30 subunidades polipeptídicas dispuestas en forma de cilindro hueco. Los sitios activos de sus subunidades proteolíticas miran hacia el interior del cilindro, lo que impide degradación indiscriminada de proteínas celulares. Las proteínas se dirigen hacia el interior del proteasoma mediante "ubiquitinación", la fijación covalente de una o más moléculas de ubiquitina; esta última es una proteína pequeña, de alrededor de 75 residuos, que está muy conservada entre eucariotas. La ubiquitinación es catalizada por una familia grande de enzimas denominadas ligasas E3, que fijan ubiquitina al grupo amino de cadena lateral de residuos lisilo.

La vía de la ubiquitina-proteasoma se encarga tanto de la degradación regulada de proteínas celulares seleccionadas (p. ej., ciclinas, cap. 35), como de la eliminación de especies proteínicas defectuosas o aberrantes. La clave para la versatilidad y selectividad del sistema de ubiquitina-proteasoma reside tanto en la variedad de las ligasas E3 intracelulares, como en su capacidad para distinguir entre diferentes estados físicos o conformacionales de una proteína blanco. De este modo, la vía de la ubiquitina-proteasoma puede degradar de manera selectiva proteínas cuya integridad física y competencia funcional han quedado comprometidas por la pérdida de un grupo prostético o por daño del mismo, oxidación de residuos cisteína o histidina, o desaminación de residuos asparagina o glutamina. El reconocimiento por enzimas proteolíticas también puede ser regulado por modificaciones covalentes, como fosforilación; unión de sustratos o de efectores alostéricos, o asociación con membranas, oligonucleótidos u otras proteínas. Cada vez más pruebas sugieren que las disfunciones de la vía de ubiquitina-proteasoma contribuyen a la acumulación de especies proteínicas plegadas de modo aberrante, características de varias enfermedades neurodegenerativas.

HAY MÚLTIPLES OPCIONES PARA REGULAR LA ACTIVIDAD CATALÍTICA

En seres humanos, la inducción de síntesis de proteína es un proceso complejo, de múltiples pasos, que típicamente requiere horas para producir cambios importantes de la concentración de enzima general. En contraste, los cambios de la eficiencia catalítica intrínseca por unión de ligandos disociables **(regulación alostérica)** o por **modificación covalente** logran regulación de la actividad enzimática en segundos. En consecuencia, los cambios en la concentración de proteína suelen dominar cuando se encuentran requerimientos adaptativos a largo plazo, mientras que los cambios de la eficiencia catalítica son más idóneos para alteraciones rápidas y transitorias del flujo de metabolitos.

LOS EFECTORES ALOSTÉRICOS REGULAN CIERTAS ENZIMAS

Inhibición por retroacción se refiere al proceso mediante el cual el producto terminal de una vía biosintética de múltiples pasos se une a, e inhibe, una enzima que cataliza uno de los primeros pasos de esa vía. En el ejemplo que sigue, para la biosíntesis de D a partir de A, catalizada por las enzimas Enz_1 a Enz_3:

$$A \xrightarrow{Enz_1} B \xrightarrow{Enz_2} C \xrightarrow{Enz_3} D$$

la concentración alta de D inhibe la conversión de A en B. En este ejemplo, el inhibidor por retroacción D actúa como un **efector alostérico negativo** de Enz_1. Sobreviene inhibición, no por el "respaldo" de intermediarios, sino por la capacidad de D para unirse a Enz_1 e inhibirla. Por lo general D se une en un **sitio alostérico**, distinto desde el punto de vista espacial del sitio catalítico de la enzima blanco. Así, los inhibidores por retroacción típicamente tienen poca o ninguna similitud estructural con los sustratos de las enzimas que inhiben, por ejemplo, el NAD^+ y 3-fosfoglicerato, los sustratos para la 3-fosfoglicerato deshidrogenasa, que cataliza el primer paso comprometido de la biosíntesis de serina, no se parecen al inhibidor por retroacción serina. En vías biosintéticas ramificadas, como las que se encargan de la biosíntesis de nucleótidos (cap. 33), las reacciones iniciales proporcionan intermediarios requeridos para la síntesis de múltiples productos terminales. En la **figura 9-4** se muestra una vía biosintética ramificada hipotética en la cual las flechas curvas van desde los inhibidores por retroacción hacia las enzimas cuya actividad inhiben. Las secuencias $S_3 \rightarrow A$, $S_4 \rightarrow B$, $S_4 \rightarrow C$ y $S_3 \rightarrow\rightarrow$ D, representan, cada una, secuencias de reacción lineal que son inhibidas por retroacción por sus productos finales. Así, las enzimas de punto de ramificación pueden direccionarse para dirigir el flujo de metabolitos.

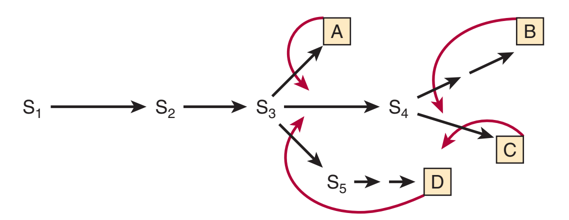


FIGURA 9–4 Sitios de inhibición por retroacción en una vía biosintética ramificada. S_1-S_5 son intermediarios en la biosíntesis de productos terminales A-D. Las flechas rectas representan enzimas que catalizan las conversiones indicadas. Las flechas de color rojo curvas representan asas de retroacción e indican sitios de inhibición por retroacción por productos terminales específicos.

Los inhibidores por retroacción típicamente inhiben el primer paso comprometido en una secuencia biosintética particular. La cinética de inhibición por retroacción puede ser competitiva, no competitiva, parcialmente competitiva, o mixta. La actividad escalonada de múltiples asas de retroacción puede proporcionar control fino adicional. Por ejemplo, la presencia de producto B excesivo disminuye el requerimiento del sustrato S_2 (**figura 9-5**). Sin embargo, S_2 también se requiere para la síntesis de A, C y D. De este modo, para esta vía, el exceso de B restringe la síntesis de los cuatro productos terminales, al margen de la necesidad de los otros tres. Para sortear esta dificultad potencial, cada producto terminal sólo puede inhibir de manera parcial la actividad catalítica. El efecto de un exceso de dos o más productos terminales puede ser estrictamente aditivo o, de modo alternativo, mayor que su efecto individual (inhibición por retroacción cooperativa).

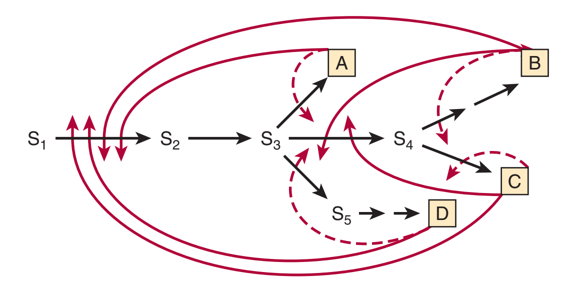


FIGURA 9–5 Inhibición por retroacción múltiple en una vía biosintética ramificada. Superpuestas sobre asas de retroacción simples (flechas rojas discontinuas) hay asas de retroacción múltiples (flechas rojas continuas) que regulan enzimas comunes a la biosíntesis de varios productos.

La aspartato transcarbamoilasa (ATCasa) es una enzima alostérica modelo

La ATCasa, el catalítico para la primera reacción singular para la biosíntesis de pirimidina (figura 33-9), es un blanco de regulación por retroacción por dos nucleótidos trifosfato de citidina (CTP) y trifosfato de adenosina (ATP). El CTP, un producto terminal de la vía biosintética de pirimidina, inhibe la ATCasa, mientras que el nucleótido de purina ATP la activa. Además, las concentraciones altas de ATP pueden superar la inhibición por CTP, lo que permite que la síntesis de nucleótidos *pirimidina* proceda cuando las concentraciones de nucleótido *purina* están altas.

Los sitios alostérico y catalítico están separados espacialmente

Jacques Monod propuso la existencia de sitios alostéricos que son físicamente distintos del sitio catalítico. Razonó que la falta de similitud estructural entre un inhibidor por retroacción y el o los sustratos para la enzima cuya actividad regula indicó que estos efectores no son **isostéricos** con un sustrato, sino **alostéricos** ("ocupan otro espacio"). Así, las **enzimas alostéricas** son aquellas para las cuales la catálisis en el sitio activo puede modularse mediante la presencia de efectores en un sitio alostérico. Desde entonces, la existencia de sitios activo y alostérico separados espacialmente se ha verificado en varias enzimas usando muchas líneas de evidencia. Por ejemplo, la cristalografía con rayos X reveló que la ATCasa de *E. coli* consta de seis subunidades catalíticas y seis subunidades reguladoras, de las cuales estas últimas se unen a los nucleótido trifosfatos que modulan la actividad. En general, la unión de un regulador alostérico induce un cambio conformacional en la enzima que abarca el sitio activo.

Los efectos alostéricos pueden ocurrir sobre K_m o sobre $V_{máx}$

Hacer referencia a la cinética de la inhibición alostérica como "competitiva" o "no competitiva" con sustrato conlleva implicaciones mecanicistas desorientadoras. En lugar de eso se hace referencia a dos clases de enzimas reguladas alostéricamente: de la serie K y de la serie V. Para las enzimas alostéricas de la serie K, la cinética de saturación de sustrato es competitiva en el sentido de que K_m está incrementada sin un efecto sobre $V_{máx}$. Para enzimas alostéricas de la serie V, el inhibidor alostérico disminuye $V_{máx}$ sin afectar la K_m. Las alteraciones de K_m o $V_{máx}$ a menudo se producen por cambios conformacionales en el sitio catalítico inducidos por unión del efector alostérico en su sitio. Para una enzima alostérica de la serie K, este cambio conformacional puede debilitar los enlaces entre sustrato y residuos de unión a sustrato. Para una enzima alostérica de la serie V, el efecto primario puede ser alterar la orientación o la carga de residuos catalíticos, lo que genera un decremento de la $V_{máx}$. Aun así, como consecuencia de estos cambios conformacionales, pueden observarse efectos intermedios sobre K_m y $V_{máx}$.

LA REGULACIÓN POR RETROACCIÓN NO ES SINÓNIMO DE INHIBICIÓN POR RETROACCIÓN

En células tanto de mamífero como de bacterias, algunos productos terminales producen "retroacción" de su propia síntesis, y la controlan, en muchos casos por medio de inhibición por retroacción de una enzima biosintética temprana. Comoquiera que sea, es necesario distinguir entre **regulación por retroacción**, término fenomenológico desprovisto de inferencias mecanicistas, e **inhibición por retroacción**, mecanismo para la regulación de la actividad enzimática. Por ejemplo, si bien el colesterol de la dieta aminora la síntesis hepática de colesterol, esta **regulación** por retroacción no incluye **inhibición** por retroacción. La HMG-CoA reductasa, la enzima limitante de la colesterogénesis, queda afectada, pero el colesterol no inhibe por retroacción su actividad. De hecho, la regulación en respuesta al colesterol de la dieta comprende restricción por el colesterol o por un metabolito del colesterol, de la expresión del gen que codifica para HMG-CoA reductasa (represión de enzima) (cap. 26).

MUCHAS HORMONAS ACTÚAN MEDIANTE SEGUNDOS MENSAJEROS ALOSTÉRICOS

Los impulsos nerviosos —y la unión de muchas hormonas a receptores de superficie celular— desencadenan cambios del índice de reacciones catalizadas por enzima dentro de células blanco, al inducir liberación o síntesis de efectores alostéricos especializados llamados **segundos mensajeros**. El mensajero primario, o "primer mensajero", es la molécula de hormona o el impulso nervioso. Los segundos mensajeros incluyen 3′,5′-cAMP, sintetizado a partir de ATP por la enzima adenilil ciclasa en respuesta a la hormona adrenalina, y Ca^{2+}, que se almacena dentro del retículo endoplásmico de casi todas las células. La despolarización de membrana originada por un impulso nervioso abre un canal de membrana que libera ion calcio hacia el citoplasma, donde se unen a enzimas comprendidas en la regulación de la contracción muscular y la movilización de glucosa almacenada desde glucógeno, y las activan. La glucosa después satisface las demandas de energía aumentadas de la contracción muscular. Otros segundos mensajeros incluyen el 3′,5′-cGMP, óxido nítrico y los polifosfoinositoles, producidos por la hidrólisis de inositol

fosfolípidos por fosfolipasas reguladas por hormona. En los capítulos 19, 42 y 48 hay ejemplos específicos de la participación de segundos mensajeros en la regulación de procesos celulares.

LAS MODIFICACIONES COVALENTES REGULADORAS PUEDEN SER REVERSIBLES O IRREVERSIBLES

En células de mamífero, ocurre un amplio rango de modificaciones covalentes reguladoras. La **proteólisis parcial** y la **fosforilación**, por ejemplo, se emplean a menudo para regular la actividad catalítica de enzimas. Por otro lado, las histonas y otras proteínas de unión a DNA en la cromatina están sujetas a modificación extensa mediante **acetilación, metilación, ribosilación de ADP**, así como fosforilación. Estas últimas modificaciones, que modulan la manera en la cual las proteínas dentro de la cromatina interactúan entre sí, así como el DNA mismo, constituyen la base para el "código de histona". Los cambios resultantes de la estructura de la cromatina dentro de la región afectada pueden hacer a los genes más accesibles a la proteína que se encarga de su transcripción, lo que aumenta la expresión de gen o, a mayor escala, facilita la replicación de todo el genoma (cap. 38). Por otro lado, se dice que los cambios de la estructura de la cromatina que restringen la accesibilidad de genes a factores de transcripción, RNA polimerasas dependientes de DNA, etc., lo que inhibe la transcripción, **silencian** la expresión de gen.

El código de histona representa un ejemplo clásico de **epigenética**, la transmisión hereditaria de información por un medio que no es la secuencia de nucleótidos que forman el genoma. En este caso, el patrón de expresión de gen dentro de una célula "hija" recién formada estará determinado, en parte, por el grupo particular de modificaciones covalentes de histona comprendidas en las proteínas de cromatina heredadas desde la célula "progenitora".

La acetilación, la ADP-ribosilación, la metilación y la fosforilación son ejemplos de modificaciones covalentes "reversibles". En este caso, **reversible** se refiere al hecho de que la proteína modificada puede restituirse a su estado original, libre de modificación. Sin embargo, no se refiere a los mecanismos mediante los cuales tiene lugar esa restitución. La termodinámica dicta que la reacción catalizada por enzimas mediante la cual se introdujo la modificación es termodinámicamente favorable, el cambio de energía libre involucrado en simplemente tratar de correr la reacción en reversa será desfavorable. La fosforilación de proteínas en residuos serilo, treonilo o tirosilo, catalizada por proteína cinasas, es favorecida termodinámicamente como consecuencia de utilizar el grupo fosforilo gamma de alta energía del ATP. Los grupos fosfato son eliminados, no al combinar el fosfato con ADP para formar ATP, sino por medio de una reacción hidrolítica catalizada por enzimas llamadas proteína fosfatasas. De modo similar, en las acetiltransferasas se emplea un sustrato donador de alta energía, el NAD^+, mientras que las desacetilasas catalizan una hidrólisis directa que genera acetato libre.

Dado que la barrera entrópica alta evita la reunificación de las dos porciones de una proteína producida por hidrólisis de un enlace peptídico, la proteólisis constituye una modificación fisiológicamente irreversible. Una vez que una proteína es activada, seguirá llevando a cabo sus funciones catalíticas o de otros tipos en tanto no sea eliminada por degradación o algún otro medio. Así, la activación de zimógeno representa un mecanismo sencillo y económico, aunque unidireccional, para restringir la actividad latente de una proteína en tanto se encuentran las circunstancias apropiadas. Por ende, no sorprende que se emplee con frecuencia proteólisis parcial para regular proteínas que funcionan en el tubo digestivo o en el torrente sanguíneo más que en el interior de células.

LAS PROTEASAS PUEDEN SECRETARSE COMO PROENZIMAS INACTIVAS DESDE EL PUNTO DE VISTA CATALÍTICO

Ciertas proteínas son sintetizadas y secretadas como proteínas precursoras inactivas conocidas como **proproteínas**. La proteólisis selectiva o parcial convierte una proproteína por medio de uno o más "cortes" proteolíticos sucesivos en una forma que muestra la actividad característica de la proteína madura, por ejemplo, su actividad catalítica. Las formas proproteínas de enzimas son llamadas **proenzimas** o **zimógenos**. Las proteínas sintetizadas como proproteínas son la hormona insulina (proproteína = proinsulina), las enzimas digestivas pepsina, tripsina y quimotripsina (proproteínas = pepsinógeno, tripsinógeno y quimotripsinógeno, respectivamente), varios factores de las cascadas de coagulación de la sangre y de disolución de coágulo de sangre (cap. 51), y la proteína del tejido conjuntivo colágeno (proproteína = procolágeno).

Las proenzimas facilitan la movilización rápida de una actividad en respuesta a demanda fisiológica

La síntesis y secreción de proteasas como proenzimas inactivas en el aspecto catalítico, protege al tejido de origen (p. ej., el páncreas) contra autodigestión, como puede ocurrir en la pancreatitis. Ciertos procesos fisiológicos como la digestión son intermitentes, pero bastante regulares y predecibles en cuanto a frecuencia. Otros, como la formación de coágulo de sangre, la disolución de coágulo y la reparación de tejido, sólo se ponen en marcha en respuesta a necesidad fisiológica o fisiopatológica apremiante. Está claro que los procesos de formación de coágulo de sangre y de disolución del mismo deben estar coordinados de modo temporal para lograr la homeostasis. Las enzimas necesarias de manera intermitente pero con rapidez a menudo se secretan en una forma inicialmente inactiva puesto que el proceso de secreción o la síntesis nueva de las proteínas requeridas podría ser insuficientemente rápido para responder a una demanda fisiopatológica apremiante, como la pérdida de sangre (cap. 51).

La activación de la proquimotripsina requiere proteólisis selectiva

La proteólisis selectiva comprende uno o más cortes proteolíticos muy específicos que pueden o no acompañarse de separación

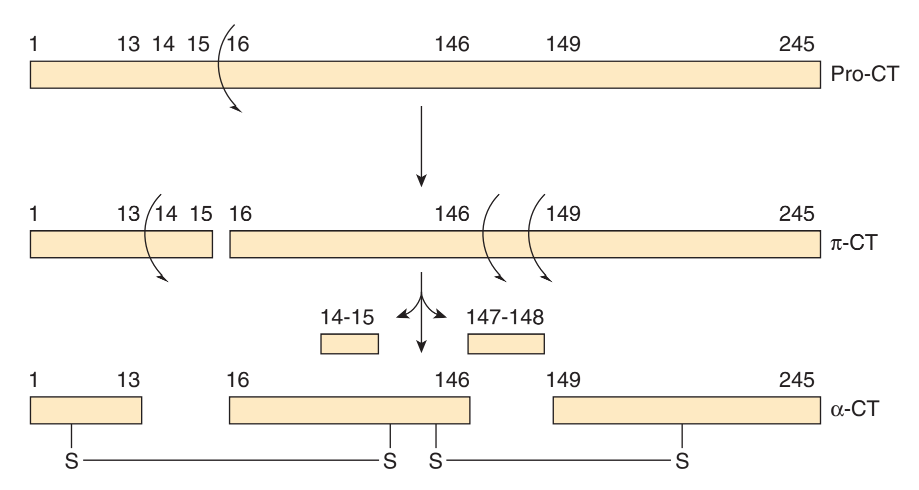


FIGURA 9–6 Representación bidimensional de la secuencia de eventos proteolíticos que a la postre dan por resultado la formación del sitio catalítico de quimotripsina, que incluye la tríada catalítica Asp 102-His57-Ser195 (véase la figura 7-7). La proteólisis sucesiva forma proquimotripsina (pro-CT), π-quimotripsina (π-Ct), y en última instancia α-quimotripsina (α-CT), proteasa activa cuyos tres péptidos (A, B, C) permanecen relacionados por enlaces covalentes entre cadena disulfuro.

de los péptidos resultantes. Lo que es más importante, la proteólisis selectiva suele originar cambios conformacionales que "crean" el sitio catalítico de una enzima. Note que aun cuando los residuos His 57 y Asp 102 catalíticamente esenciales residen en el péptido B de la α-quimotripsina, Ser 195 reside en el péptido C (**figura 9-6**). Los cambios conformacionales que acompañan a la proteólisis selectiva de la proquimotripsina (quimotripsinógeno) alinean los tres residuos de la red de transmisión de carga (figura 7-7), lo que forma el sitio catalítico. Note también que los residuos de contacto y catalítico pueden estar ubicados en diferentes cadenas peptídicas, pero aún estar dentro de la distancia formadora de enlace de sustrato unido.

LA MODIFICACIÓN COVALENTE REVERSIBLE REGULA PROTEÍNAS CLAVE DE MAMÍFERO

Las proteínas de mamífero son los blancos de una amplia gama de procesos de modificación covalente. Las modificaciones como prenilación, glucosilación, hidroxilación y acilación de ácido graso introducen características estructurales singulares en proteínas recién sintetizadas, que tienden a persistir durante toda la vida de la proteína. Entre las modificaciones covalentes que regulan la función de proteína (p. ej., metilación, acetilación), la más frecuente con mucho es la fosforilación-desfosforilación. Las **proteína cinasas** fosforilan proteínas al catalizar la transferencia del grupo fosforilo terminal de ATP hacia los grupos hidroxilo de residuos serilo, treonilo o tirosilo, lo que forma residuos *O*-fosfoserilo, *O*-fosfotreonilo, u *O*-fosfotirosilo, respectivamente (**figura 9-7**). Algunas proteína cinasas se dirigen hacia las cadenas laterales de residuos histidilo, lisilo, arginilo y aspartilo. La forma no modificada de la proteína puede regenerarse mediante eliminación hidrolítica de grupos fosforilo, catalizada por **proteína fosfatasas**.

Una célula de mamífero característica posee miles de proteínas fosforiladas y varios cientos de proteína cinasas y proteína fosfatasas que catalizan su interconversión. La facilidad de interconversión de enzimas entre sus formas fosfo- y desfosfo- explica, en parte, la frecuencia con la cual la fosforilación-desfosforilación se utiliza como un mecanismo para el control regulatorio. La fosforilación-desfosforilación permite alterar las propiedades funcionales de la enzima afectada sólo durante el tiempo que satisfaga una necesidad específica. Una vez que la necesidad ha desaparecido, la enzima puede convertirse de regreso a su forma original, preparada para responder al siguiente evento estimulador. Un segundo factor que fundamenta el uso difundido de fosforilación-desfosforilación de proteínas yace en las propiedades químicas del grupo fosforilo mismo. Para alterar las propiedades funcionales de una enzima, resulta necesario que cualquier modificación de su estructura química influya sobre la configuración tridimensional de la proteína. La densidad de carga alta de grupos fosforilo unidos a proteína, en general –2 a pH fisiológico, y su propensión a formar fuertes puentes salinos con residuos arginilo y lisilo, hacen de ellos potentes agentes para modificar la estructura y función de proteínas. La fosforilación regularmente influye sobre la eficiencia catalítica intrínseca de una enzima o sobre otras propiedades al inducir cambios

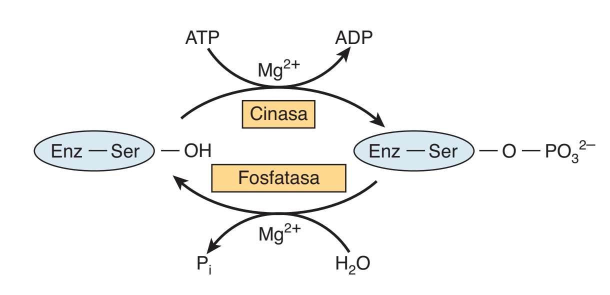


FIGURA 9–7 Modificación covalente de una enzima regulada por fosforilación-desfosforilación de un residuo serilo.

conformacionales. Por tanto, los aminoácidos hacia los cuales se dirige la fosforilación pueden estar, y por lo general lo están, relativamente distantes del sitio catalítico en sí.

La modificación covalente regula el flujo de metabolitos

En muchos aspectos, los sitios de fosforilación de proteína y otras modificaciones covalentes pueden considerarse otra forma de sitio alostérico. De cualquier modo, en este caso, el "ligando alostérico" se une de modo covalente a la proteína. Tanto la fosforilación-desfosforilación como la inhibición por retroacción proporcionan regulación a corto plazo, fácilmente reversible, del flujo de metabolitos en respuesta a señales fisiológicas específicas. Ambas actúan sin alterar la expresión de gen. Las dos actúan sobre las primeras enzimas de una secuencia metabólica prolongada y a menudo biosintética, y ambas actúan en sitios alostéricos más que catalíticos. No obstante, la inhibición por retroacción involucra una sola proteína, y carece de características hormonales y neurales. En contraste, la regulación de enzimas de mamífero por fosforilación-desfosforilación comprende varias proteínas y ATP, y está bajo el control neural y hormonal directo.

LA FOSFORILACIÓN DE PROTEÍNA ES EN EXTREMO VERSÁTIL

La fosforilación-desfosforilación de proteína es un proceso muy versátil y selectivo. No todas las proteínas están sujetas a fosforilación; esta última sólo se dirige a uno, o un pequeño subgrupo, de los muchos grupos hidroxilo sobre la superficie de una proteína. Si bien la función enzimática afectada más a menudo es la eficiencia catalítica de la proteína, la fosforilación también puede alterar su ubicación dentro de la célula, la susceptibilidad a la degradación proteolítica, o la capacidad de respuesta a regulación por ligandos alostéricos. La fosforilación puede incrementar la eficiencia catalítica de una enzima, y convertirla en su forma activa en una proteína, mientras que la fosforilación de otra proteína la convierte en una forma intrínsecamente ineficiente, o inactiva (**cuadro 9-1**).

Muchas proteínas pueden fosforilarse en múltiples sitios. Otras están sujetas a regulación tanto por fosforilación-desfosforilación, como por la unión de ligandos alostéricos, o por fosforilación-desfosforilación y otra modificación covalente. La fosforilación-desfosforilación en cualquier sitio puede catalizarse por múltiples proteína cinasas o proteína fosfatasas. Muchas proteína cinasas y casi todas las proteína fosfatasas actúan sobre más de una proteína y se interconvierten entre formas activa e inactiva por la unión de segundos mensajeros o por modificación covalente por fosforilación-desfosforilación.

La interrelación entre proteína cinasas y proteína fosfatasas, entre las consecuencias funcionales de la fosforilación en diferentes sitios, entre sitios de fosforilación y sitios alostéricos, o entre sitios de fosforilación y otros sitios de modificación covalente, proporciona la base para redes reguladoras que integran múltiples informes de entrada ambientales para desencadenar una respuesta celular coordinada apropiada. En estas redes reguladoras complejas, enzimas individuales muestran respuesta a diferentes señales ambientales. Por ejemplo, si una enzima puede ser fosforilada en un sitio único por más de una proteína cinasa, puede ser convertida desde una forma catalíticamente eficiente hacia una ineficiente (inactiva), o viceversa, en respuesta a cualquiera de varias señales. Si la proteína cinasa es activada en respuesta a una señal diferente de la señal que activa la proteína fosfatasa, la fosfoproteína se convierte en un nodo de decisión. La salida funcional, generalmente actividad catalítica, refleja el estado de fosforilación. Dicho estado o grado de fosforilación está determinado por las actividades relativas de la proteína cinasa y la proteína fosfatasa, un reflejo de la presencia y de la fuerza relativa de las señales ambientales que actúan a través de cada una.

La capacidad de muchas proteína cinasas y proteína fosfatasas para dirigirse a más de una proteína proporciona un medio para una señal ambiental para regular de manera coordinada múltiples procesos metabólicos. Por ejemplo, las enzimas 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa y acetil-CoA carboxilasa —las enzimas controladoras para la biosíntesis de colesterol y ácido graso, respectivamente— son fosforiladas y desactivadas por la proteína cinasa activada por monofosfato de adenosina (AMP). Cuando esta proteína cinasa se activa sea mediante fosforilación por aun otra proteína cinasa o en respuesta a la unión de su activador alostérico 5′-AMP, las dos vías principales de las cuales depende la síntesis de lípidos a partir de acetil-CoA quedan inhibidas.

CUADRO 9–1 Ejemplos de enzimas de mamífero cuya actividad catalítica es alterada por fosforilación-desfosforilación covalente

	Estado de actividad	
Enzima	**Bajo**	**Alto**
Acetil-CoA carboxilasa	EP	E
Glucógeno sintasa	EP	E
Piruvato deshidrogenasa	EP	E
HMG-CoA reductasa	EP	E
Glucógeno fosforilasa	E	EP
Citrato liasa	E	EP
Fosforilasa b cinasa	E	EP
HMG-CoA reductasa cinasa	E	EP

Abreviaturas: E, desfosfoenzima; EP, fosfoenzima.

EVENTOS REGULADORES INDIVIDUALES SE COMBINAN PARA FORMAR REDES DE CONTROL COMPLEJAS

Las células llevan a cabo una compleja gama de procesos metabólicos que deben regularse en respuesta a una amplia gama de factores ambientales. En consecuencia, las enzimas intercon-

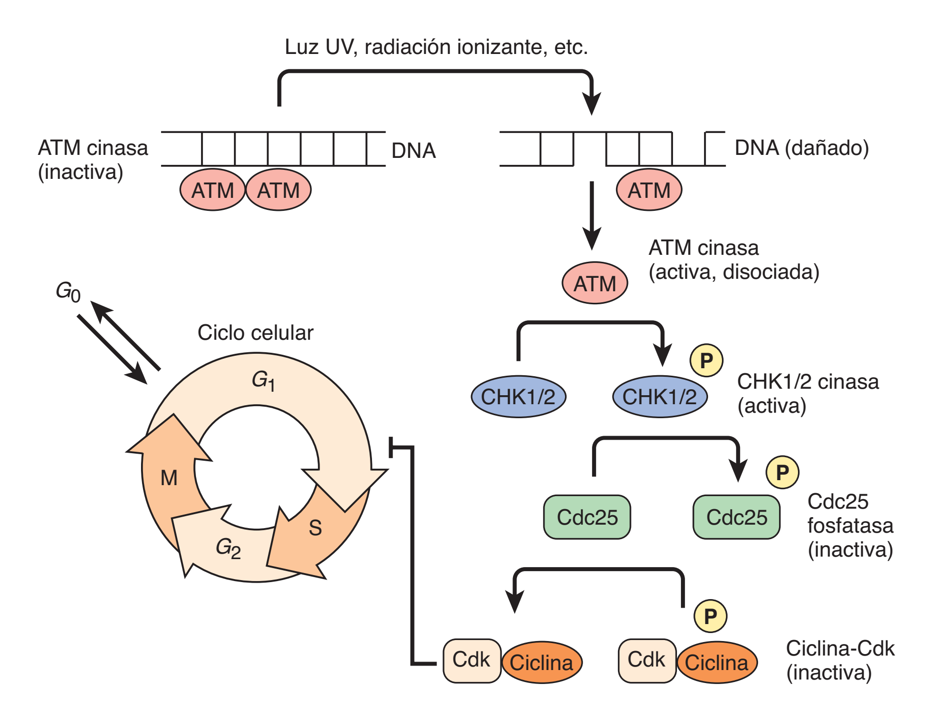


FIGURA 9–8 Representación simplificada del punto de control de G_1 a S del ciclo de célula eucariótica. El círculo muestra las diversas etapas en el ciclo de célula eucariótica. El genoma se replica durante la fase S, mientras que en el transcurso de la fase M las dos copias del genoma se segregan y ocurre división celular. Cada una de estas fases está separada por una fase *G*, o de crecimiento (*growth*), caracterizada por un incremento del tamaño de las células y la acumulación de los precursores requeridos para el montaje de los complejos macromoleculares grandes formados durante las fases S y M.

vertibles, y las enzimas de las cuales depende su interconversión no actúan como conmutadores de "encendido" y "apagado" aislados. Para satisfacer las demandas de mantener la homeostasis, estos bloques de construcción están enlazados para formar redes reguladoras integradas.

Un ejemplo bien estudiado de ese tipo de red es el ciclo de células eucarióticas que controla la división celular. Cuando emerge del estado quiescente, o G_0, el proceso en extremo complejo de división celular procede a través de una serie de fases específicas designadas G_1, S, G_2 y M (**figura 9-8**). Complejos sistemas de vigilancia, llamados puntos de control, evalúan indicadores clave de progreso para asegurar que ninguna fase del ciclo se inicie sino hasta que la fase previa esté completa. En la figura 9-8 se desglosa de modo simplificado parte del punto de control que regula el inicio de replicación de DNA, denominado la fase S. Una proteína cinasa llamada ATM se asocia con el genoma. Si el DNA contiene una rotura de doble cadena, el cambio resultante en la conformación de la cromatina activa a la ATM. En el momento de la activación, una subunidad del dímero de ATM activada se disocia e inicia una serie, o cascada, de eventos de fosforilación-desfosforilación de proteína mediados por las proteínas cinasas CHK1 y CHK2, proteína fosfatasa Cdc25 y, por último, un complejo entre una ciclina y una proteína cinasa dependiente de ciclina, o Cdk. La activación del complejo de Cdk/ciclina bloquea la transición de G_1 a S, lo que evita la replicación de DNA dañado. La falla en este punto de control puede llevar a mutaciones en el DNA que pueden conducir a cáncer u otras enfermedades. Cada paso en la cascada proporciona un conducto para vigilar indicadores adicionales del estado de la célula antes de entrar en la fase S.

RESUMEN

- La homeostasis incluye mantener un ambiente intracelular y dentro de órganos relativamente constante pese a amplias fluctuaciones en el ambiente externo. Esto se logra por medio de cambios apropiados en los índices de reacciones bioquímicas en respuesta a necesidad fisiológica.
- Los sustratos para casi todas las enzimas por lo general están presentes a una concentración cercana a su K_m. Esto facilita el control pasivo de los índices de formación de producto en respuesta a cambios de las concentraciones de intermediarios metabólicos.
- El control activo del flujo de metabolitos comprende cambios de la concentración, la actividad catalítica, o ambos, de una enzima que cataliza una reacción limitante comprometida.
- La proteólisis selectiva de proenzimas inactivas desde el punto de vista catalítico, inicia cambios conformacionales que forman el sitio activo. La secreción como una proenzima inactiva facilita la movilización rápida de actividad en respuesta a lesión o necesidad fisiológica, y puede proteger al tejido de origen (p. ej., autodigestión por proteasas).
- La unión de metabolitos y segundos mensajeros a sitios distintos del sitio catalítico de enzimas desencadena cambios conformacionales que alteran la $V_{máx}$ o la K_m.
- La fosforilación por proteína cinasas de residuos serilo, treonilo o tirosilo específicos —y la desfosforilación subsiguiente por proteína fosfatasas— regula la actividad de muchas enzimas de seres humanos. Las proteína cinasas y fosfatasas que participan en cascadas de regulación que responden a informes hormonales o de segundo mensajero, constituyen redes reguladoras que pueden procesar e integrar

información ambiental compleja para producir una respuesta celular apropiada e integral.

REFERENCIAS

Ciechanover A, Schwartz AL: The ubiquitin system: pathogenesis of human diseases and drug targeting. Biochim Biophys Acta 2004;1695:3.

Elgin SC, Reuter G. In Allis CD, Jenuwein T, Reinberg D, et al (editors): Epigenetics, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2007.

Johnson LN, Lewis RJ: Structural basis for control by phosphorylation. Chem Rev 2001;101:2209.

Muoio DM, Newgard CB: Obseity-related derangements in metabolic regulation. Anu Rev Biochem 2006;75:403.

Scriver CR, Sly WS, Childs B, et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2000.

Stieglitz K, Stec B, Baker DP, et al: Monitoring the transition from the T to the R state in *E. coli* aspartate transcarbamoylase by x-ray crystallography: crystal structures of the E50A mutant enzyme in four distinct allosteric states. J Mol Biol 2004; 341:853.

Tu BP, Kudlicki A, Rowicka M, et al: Logic of the yeast metabolic cycle: temporal compartmentalization of cellular processes. Science 2005;310:1152.

Walsh CT: *Posttranslational Modification of Proteins. Expanding Nature's Inventory,* Roberts and Company Publishers, 2006.

CAPÍTULO

10

Bioinformática y biología computacional

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir las principales características de la genómica, proteómica y bioinformática.
- Resumir las principales características y la importancia médica del proyecto Encode.
- Describir las funciones de las bases de datos HapMap, *Entrez* Gene, BLAST y dbGAP.
- Describir las principales características del diseño y el descubrimiento de fármacos auxiliados por computadora.
- Describir posibles aplicaciones futuras de modelos computacionales de vías individuales y redes de vías.
- Esbozar la posible utilidad médica de "células virtuales".

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los primeros modelos científicos de patogenia, como la teoría de la enfermedad por gérmenes, de gran influencia, de Louis Pasteur, fueron de naturaleza binaria: cada enfermedad poseía un agente causal único y definible. El paludismo se originó por la ameba *Plasmodium falciparum,* la tuberculosis por la bacteria *Mycobacterium tuberculosis,* la drepanocitosis por una mutación en un gen que codifica para una de las subunidades de la hemoglobina, la poliomielitis por el virus del mismo nombre, y el escorbuto por una deficiencia de ácido ascórbico. De este modo, la estrategia para tratar enfermedad o prevenirla podía reducirse a un proceso sencillo de rastrear el agente causal y después idear algún medio para eliminarlo, neutralizar sus efectos, o bloquear su ruta de transmisión. Este método se ha empleado de manera exitosa para entender y tratar una amplia gama de enfermedades infecciosas y genéticas. Sin embargo, ha quedado claro que los determinantes de muchas enfermedades —entre ellas cáncer, cardiopatía coronaria, diabetes tipo 2 y enfermedad de Alzheimer— son de naturaleza **multifactorial**. En lugar de tener uno o varios agentes causales específicos, cuya presencia es tanto necesaria como suficiente, la aparición y progresión de las enfermedades mencionadas refleja la compleja interrelación entre la constitución genética, otros factores hereditarios o **epigenéticos**, así como una gama de factores ambientales, como dieta, estilo de vida y la presencia de toxinas, virus o bacterias.

El desafío planteado por **enfermedades multifactoriales** demanda un gran aumento del alcance y la profundidad del conocimiento sobre organismos vivos, capaz de igualar su sofisticación y complejidad. Es necesario identificar las muchas proteínas hasta ahora desconocidas codificadas dentro de los genomas de seres humanos y los organismos con los cuales interactúan, sus funciones e interacciones celulares. Es preciso ser capaz de rastrear los factores, tanto externos como internos, que ponen en peligro la salud y el bienestar del ser humano al analizar las repercusiones de factores de la dieta, genéticos y ambientales a través de comunidades o poblaciones enteras.

La masa total de información que debe procesarse se ubica muy lejos de la capacidad de la mente humana para revisar y analizar sin ayuda. Para entender de manera tan completa e integral como sea posible los mecanismos moleculares que fundamentan la conducta de organismos vivos, la manera en la cual las perturbaciones pueden llevar a enfermedad o disfunción, y cómo esos factores perturbadores se diseminan en toda una población, los científicos biomédicos han recurrido a instrumentos computacionales sofisticados para reunir y evaluar información biológica a una escala masiva.

GENÓMICA: UNA AVALANCHA DE INFORMACIÓN

Los médicos y los científicos desde hace mucho han entendido que el genoma, la totalidad de información genética de un organismo vivo, representa una rica fuente de información respecto a temas que varían desde metabolismo básico y mecanismos de evolución, hasta longevidad y envejecimiento. Empero, el tamaño masivo del genoma humano, 3×10^9 pares de bases de nucleótido, requirió un cambio paradigmático en el modo en el cual los científicos abordaron la determinación de las secuencias de DNA. A su vez, los avances recientes en bioinformática y biología computacional han sido impulsados por la necesidad

de crear nuevos métodos para "explotar" la masa de datos sobre secuencia generados mediante la aplicación de tecnología cada vez más eficiente y económica a los genomas de cientos de organismos nuevos y, en fecha más reciente, de varios seres humanos individuales.

El *Human Genome Project* (HGP)

La terminación exitosa del Proyecto Genoma Humano (HGP) representa la culminación de más de seis decenios de logros en biología molecular, genética y bioquímica. A continuación se listan en forma cronológica varios eventos hito que llevaron a la determinación de toda la secuencia del genoma humano.

1944 — Se demuestra que el DNA es el material hereditario
1953 — Se postula el concepto de la doble hélice
1966 — Se resuelve el código genético
1972 — Se crea la tecnología de DNA recombinante
1977 — Surge la tecnología de secuenciación de DNA práctica
1983 — Se mapea el gen del cual depende la enfermedad de Huntington
1985 — Se inventa la reacción en cadena de polimerasa (PCR)
1986 — La secuenciación de DNA se hace automatizada
1986 — Se identifica el gen del cual depende la distrofia muscular de Duchenne
1989 — Se identifica el gen causante de la fibrosis quística
1990 — Se lanza el HGP en EUA
1994 — Se completa el mapeo genético humano
1996 — Se establece el primer mapa de genes humanos
1999 — Se inicia la *Single Nucleotide Polymorphism Initiative*
1999 — Se completa la primera secuencia de un cromosoma humano, el número 22
2000 — Se completa el "primer borrador" del genoma humano
2003 — Se completa la secuenciación del primer genoma humano
2010 — Científicos emprenden la secuenciación de 1 000 genomas individuales para determinar el grado de diversidad genética en seres humanos

Hacia 2011 se habían secuenciado más de 180 genomas eucariontes, procariontes y de archaea. Los ejemplos comprenden los genomas del pollo, gato, perro, elefante, rata, conejo, orangután, mamut lanudo y ornitorrinco, y los genomas de varios individuos, entre ellos Craig Venter y James Watson. En 2010 se completó el genoma del hombre de Neanderthal, cuyo análisis inicial sugiere que hasta 2% del DNA en el genoma de los seres humanos actuales fuera de África se originó en hombres de Neanderthal o en ancestros de los mismos.

Hasta la fecha en que se escribió este capítulo, se habían reportado las secuencias de genoma de más de 5 000 entidades biológicas, que varían desde virus y bacterias hasta vegetales y animales. El acceso fácil a secuencias de genoma de organismos que abarcan los tres dominios filogenéticos, y a los algoritmos poderosos que son un requisito para manipular los datos derivados de estas secuencias y transformarlos, ha cambiado la investigación básica en biología, microbiología, farmacología y bioquímica.

Genomas y medicina

Al comparar los genomas de cepas patógenas y no patógenas de un microorganismo particular, pueden ponerse de manifiesto genes que tienen probabilidades de codificar para determinantes de virulencia en virtud de su presencia sólo en la cepa virulenta. De modo similar, la comparación del genoma de un agente patógeno con el de su huésped puede identificar genes singulares para el primero. En teoría, fármacos que se dirijan a los productos proteínicos de los genes específicos para agente patógeno deben producir pocos efectos secundarios o ninguno para el huésped infectado. Durante el próximo decenio se atestiguará la expansión de la "revolución genómica" hacia la práctica cotidiana de la medicina y la agricultura a medida que médicos y científicos exploten el nuevo conocimiento del genoma del *Homo sapiens* y los genomas de los organismos que lo colonizan, se alimentan de él y lo infectan. Mientras que el primer proyecto del genoma humano requirió varios años, cientos de personas y muchos millones de dólares para completarse, enormes avances de la eficiencia y la economía han llevado a una compañía a proyectar que para 2014 se habrán determinado secuencias de genoma individuales de hasta un millón de personas. La capacidad para diagnosticar y tratar a pacientes con el conocimiento de su conformación genética como guía, un método popularmente denominado "medicina de diseñador", hará a la medicina más segura y más eficaz.

Secuenciación del exoma

Un heraldo de esta nueva era ha sido proporcionado por la aplicación de "secuenciación del exoma" al diagnóstico de enfermedades genéticas raras o crípticas. El exoma consta de los segmentos de DNA, llamados exones, que codifican para las secuencias de aminoácidos de las proteínas (cap. 36). Puesto que los exones sólo comprenden alrededor de 1% del genoma humano, el exoma representa un blanco de tamaño mucho menor y más tratable que el genoma completo. La comparación de las secuencias del exoma ha identificado los genes de los cuales depende una lista creciente de enfermedades que incluye retinitis pigmentosa, síndrome de Freeman-Sheldon, y síndrome de Kabuki.

Los desafíos potenciales de la medicina de diseñador

Si bien la "medicina de diseñador" basada en el genoma promete ser muy eficaz, también confronta a la humanidad con profundos desafíos en las áreas de ética, legislación y política pública. ¿Quién posee el acceso a esta información y lo controla? ¿Puede, por ejemplo, una compañía de seguros de vida o de gastos médicos negar cobertura a un individuo con base en los factores de riesgo que queden de manifiesto a partir de su secuencia del genoma? ¿Una empresa que esté contemplando otorgar un empleo tiene el derecho de conocer la conformación genética de un empleado potencial? ¿Las personas que están considerando contraer matrimonio tienen el derecho de conocer los factores de riesgo genéticos de sus prometidos? Irónicamente, la resolución de estos temas quizá resulte ser un proceso más prolongado y laborioso que lo que fue la determinación de la primera secuencia del genoma del ser humano.

BIOINFORMÁTICA

Explota las formidables capacidades de almacenamiento y procesamiento de información de la computadora para crear recur-

sos para la recolección, la compaginación, la recuperación y el análisis de datos biológicos a escala masiva. Es posible tener acceso a muchos recursos bioinformáticos (véase más adelante) mediante Internet, con alcance y repercusiones mundiales. El objetivo central de un proyecto de bioinformática típico es montar toda la información disponible relevante para un tema particular en una ubicación única, lo que suele denominarse una **biblioteca** o **base de datos**, en un formato uniforme que haga que los datos se presten a manipulación y análisis por medio de algoritmos de computadora.

Bases de datos de bioinformática

El tamaño y las capacidades de las bases de datos de bioinformática pueden variar ampliamente dependiendo del alcance y la naturaleza de sus objetivos. La base de datos PubMed (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=pubmed) compila citas de todos los artículos publicados en miles de revistas dedicadas a la investigación biomédica y biológica. En la actualidad, PubMed contiene más de 20 millones de citas. En contraste, la RNA Helicase Database (http://www.rnahelicase.org/) se confina a la secuencia, estructura y función bioquímica y celular de una sola familia de enzimas: las RNA helicasas.

Retos de la construcción de bases de datos

La construcción de una base de datos integral y fácil de usar plantea muchos desafíos. En primer lugar, la información biomédica viene en una amplia variedad de formas. Por ejemplo, la información sobre codificación en un genoma, aun cuando es voluminosa, está compuesta de secuencias lineales simples de cuatro bases de nucleótidos. Si bien el número de residuos aminoácidos que define la estructura primaria de una proteína es pequeño en comparación con el número de pares de bases en un genoma, una descripción de la estructura de rayos X de una proteína requiere que la localización de cada átomo se especifique en un espacio tridimensional.

En segundo lugar, el diseñador debe anticipar en forma correcta la manera en la cual los usuarios pueden desear investigar o analizar la información dentro de una base de datos, e idear algoritmos para manejar estas variables. Por ejemplo, incluso en la tarea en apariencia simple de investigar una base de datos de genes, por lo general se emplean, solos o en diversas combinaciones, criterios tan diversos como el nombre del gen, el nombre de la proteína para la cual codifica, la función biológica del producto del gen, una secuencia de nucleótidos dentro del gen, una secuencia de aminoácidos dentro de la proteína para la cual codifica, el organismo en el cual está presente o el nombre del investigador que determinó la secuencia de ese gen.

LA EPIDEMIOLOGÍA ESTABLECIÓ EL POTENCIAL MÉDICO DEL PROCESAMIENTO DE INFORMACIÓN

El poder de la investigación biomédica básica reside en la capacidad de los científicos de laboratorio para manipular blancos de investigación homogéneos, bien definidos, en circunstancias cuidadosamente controladas. La capacidad para variar de manera independiente las características cualitativas y cuantitativas de variables tanto blanco como de entrada permite determinar relaciones entre causa y efecto de una manera directa y fiable. Sin embargo, estas ventajas se obtienen al emplear organismos "modelo", como ratones o líneas de células de ser humano cultivadas como sustitutos para los pacientes humanos que representan los blancos finales de esta investigación y los beneficiarios de la misma. Los animales de laboratorio no siempre reaccionan como lo hace el *Homo sapiens*; una placa de fibroblastos, o de células de riñón o de otros tipos de células en cultivo, tampoco replica la increíble complejidad de un ser humano.

Aunque es incapaz de efectuar experimentos rigurosamente controlados en sujetos humanos, desde hace mucho tiempo la observación cuidadosa de la conducta en el mundo real ha resultado ser una fuente de importante información biomédica. Por ejemplo, Hipócrates notó que si bien ciertas enfermedades **epidémicas** aparecían de una manera esporádica, las enfermedades **endémicas** como el paludismo mostraban una clara asociación con ubicaciones, grupo de edad, etc., particulares. **Epidemiología** es la rama de las ciencias biomédicas que emplea métodos bioinformáticos para extender la capacidad para identificar factores que contribuyen a la salud de seres humanos o que la alteran, y aumentar la exactitud con la cual es posible hacerlo, por medio del estudio de poblaciones del mundo real.

Primeros datos epidemiológicos del cólera

En uno de los primeros estudios epidemiológicos registrados, realizado por el Dr. John Snow, se empleó análisis geoespacial simple para rastrear la fuente de un brote de cólera. Las epidemias de cólera, tifo y otras enfermedades infecciosas eran relativamente comunes en las condiciones de hacinamiento y poco higiénicas del Londres del siglo XIX. Al mapear los lugares donde residían las víctimas, Snow logró rastrear la fuente del contagio a la contaminación de una de las bombas públicas que abastecía de agua potable a los ciudadanos (**figura 10-1**). Lamentablemente, la capacidad limitada de la realización del manual de cálculos o de gráficos, hizo que el éxito de los análisis como los de Snow dependiera de manera fundamental de la elección de la hipótesis de trabajo usada para seleccionar las variables que se iban a medir y a procesar. De este modo, si bien los londinenses del siglo XIX también reconocieron que los merceros tenían propensión particular a mostrar conducta errática e irracional (p. ej., como lo indica el dicho "tan loco como un sombrerero"), transcurriría casi un siglo antes de que la causa se rastreara a los compuestos de mercurio usados para preparar el fieltro a partir del cual se fabricaban los sombreros.

Repercusiones de la bioinformática sobre análisis epidemiológicos

A medida que el proceso de análisis de datos se ha automatizado, la sofisticación y la tasa de éxito de los análisis epidemiológicos han aumentado en consecuencia. Hoy, algoritmos de

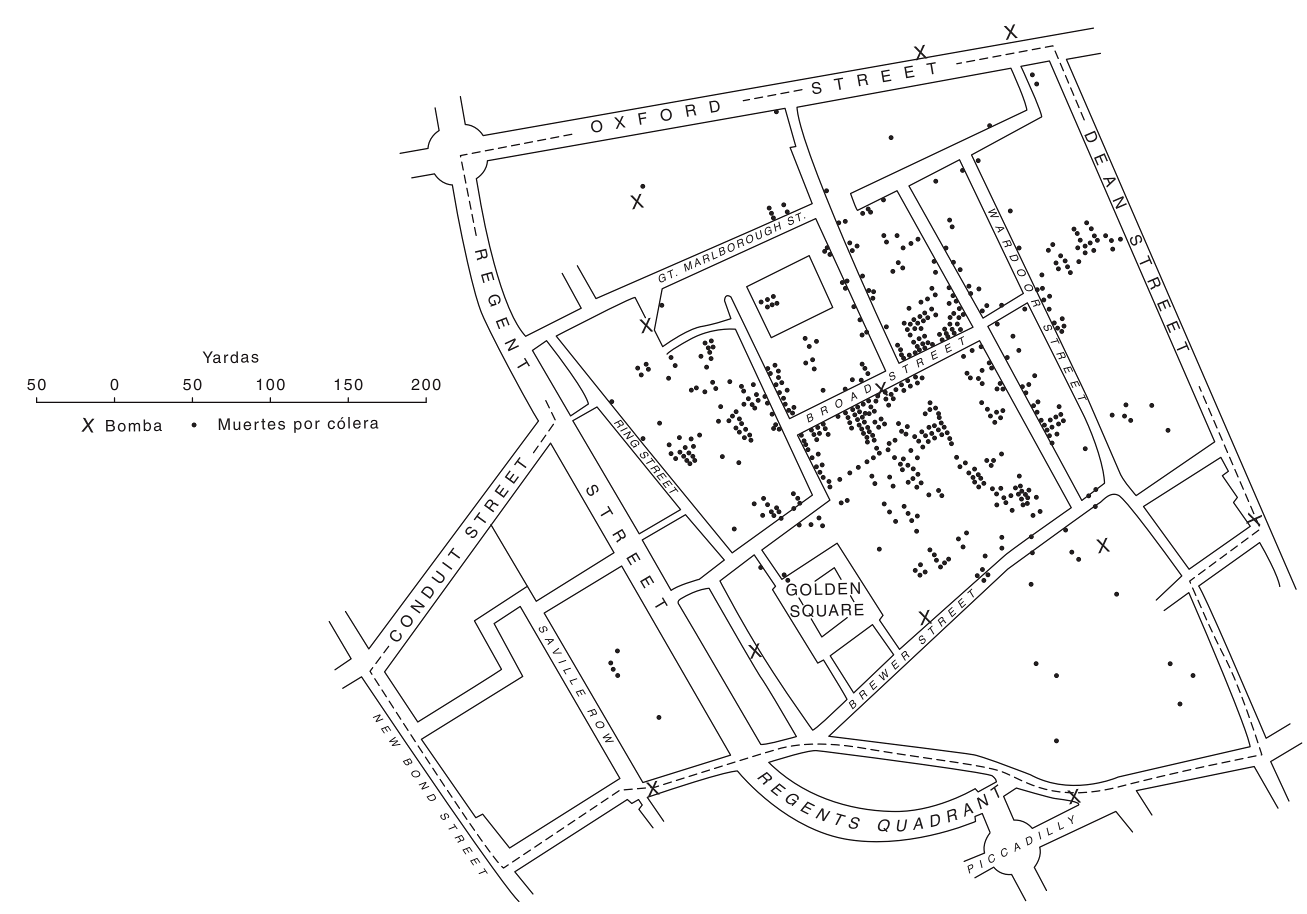


FIGURA 10–1 **Esta versión del mapa dibujado por el Dr. John Snow compara la ubicación de las residencias de víctimas de una epidemia de cólera en Londres en 1854 (puntos) con las ubicaciones de las bombas que abastecían agua potable (X).** El agua contaminada de la bomba en Broad Street, aproximadamente en el centro de la agrupación de víctimas, resultó ser la fuente de la epidemia en este vecindario.

computadora complejos permiten a los investigadores evaluar la influencia de un rango amplio de parámetros relacionados con la salud cuando se rastrea la identidad y la fuente o se reconstruye la transmisión de una enfermedad o padecimiento: estatura; peso; edad; género; índice de masa corporal; dieta; grupo étnico; historial médico; profesión; consumo de drogas, alcohol o tabaco; ejercicio; presión arterial; hábitat; estado marital; tipo de sangre; concentración sérica de colesterol, etc. Tiene igual importancia que la bioinformática moderna tal vez pronto permita a los epidemiólogos analizar minuciosamente las identidades e interacciones de los múltiples factores que subyacen a enfermedades complejas, como el cáncer o la enfermedad de Alzheimer.

En breve, la acumulación de secuencias de genoma individual introducirá una nueva dimensión poderosa a los muchísimos factores biológicos, ambientales y conductuales por comparar y contrastar con el historial médico personal. Uno de los primeros frutos de estos estudios ha sido la identificación de los genes de los cuales dependen algunos de los más de 3 000 trastornos mendelianos conocidos o sospechados, cuyas anormalidades genéticas causales quedan por rastrear. La capacidad para evaluar contribuciones de, y las interacciones entre, la constitución genética, conducta, ambiente, dieta y estilo de vida de un individuo, se muestra promisoria de finalmente revelar las respuestas a la antigua pregunta de por qué algunas personas muestran mayor vitalidad, aguante, longevidad y resistencia a enfermedades que otras; en otras palabras, las fuentes raíz de la salud y el bienestar.

BIOINFORMÁTICA Y RECURSOS GENÓMICOS

El gran conjunto de bases de datos que se ha creado para el montaje, la anotación, el análisis y la distribución de datos biológicos y biomédicos refleja el alcance y la variedad de la investigación molecular, bioquímica, epidemiológica y clínica contemporánea. A continuación se listan ejemplos de los recursos de bioinformática de mayor importancia: *UniProt*, *GenBank* y la *Protein Database* (PDB) representan tres de las bases de datos bioinformáticas más antiguas y más ampliamente utilizadas. Cada una complementa a la otra, al centrarse en un aspecto diferente de la estructura macromolecular.

Uniprot

Los orígenes de la *UniProt Knowledgebase* (http://www.pir.uniprot.org/) se remontan hasta el *Atlas of Protein Sequence and Structure*, enciclopedia impresa de secuencias de proteínas,

publicada por vez primera en 1968 por Margaret Dayhoff y la *National Biomedical Research Foundation* en la Georgetown University. El objetivo del Atlas fue facilitar estudios de evolución de proteínas usando las secuencias de aminoácidos que se están generando como consecuencia de la creación del método de Edman para la secuenciación de proteínas (cap. 4). En asociación con el *Martinsreid Institute for Protein Sequences* y la *International Protein Information Database* de Japón, el Atlas hizo la transición hacia la forma electrónica como la *Protein Information Resource* (PIR) *Protein Sequence Database* en 1984. En 2002, la PIR integró su base de datos de secuencia y función de proteínas con la base de datos de proteínas Swiss-Prot, establecida por Amos Bairoch en 1986 bajo los auspicios del *Swiss Institute of Bioinformatics* y el *European Bioinformatics Institute*, para formar el recurso más integral del mundo sobre estructura y función de proteínas, la UniProt Knowledgebase.

GenBank

La meta del GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/), la base de datos de secuencia genética, de los *National Institutes of Health* (NIH), es colectar y almacenar todas las secuencias de nucleótidos conocidas y sus traducciones en una forma fácil de buscar. GenBank, establecido en 1979 por Walter Goad de Los Alamos National Laboratory, en la actualidad es mantenido por el *National Center for Biotechnology Information* en los NIH. GenBank constituye una de las piedras angulares de la *International Sequence Database Collaboration*, consorcio que incluye la *DNA Database of Japan* y el *European Molecular Biology Laboratory*.

PDB

La *Protein Database RCSB* (http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do), depositaria de las estructuras tridimensionales de proteínas, los polinucleótidos y otras macromoléculas biológicas, fue establecida en 1971 por Edgar Meyer y Walter Hamilton de los Brookhaven National Laboratories. En 1998, la responsabilidad de la PDB se transfirió a la *Research Collaboration for Structural Bioinformatics* formada por la Rutgers University, la University of California en San Diego, y la University of Wisconsin. La PDB contiene bastante más de 50 000 estructuras tridimensionales para proteínas, así como proteínas unidas con sustratos, análogos de sustrato, inhibidores u otras proteínas. El usuario puede rotar estas estructuras libremente en el espacio tridimensional, poner de relieve aminoácidos específicos, y seleccionar a partir de diversos formatos, como llenado de espacio, listones, esqueleto, etc. (caps. 5, 6 y 10).

Los SNP y SNP marca

Aun cuando la secuencia del genoma de cualesquiera dos sujetos es 99.9% idéntica, el DNA humano contiene alrededor de 10 millones de sitios en los cuales los individuos difieren por una base de nucleótido único. Estos sitios se llaman **polimorfismos de un solo nucleótido (SNP)**. Cuando los grupos SNP localizados en el mismo cromosoma se heredan juntos en bloques, el modelo de SNP en cada bloque se llama **haplotipo**. Al comparar las distribuciones de haplotipos en grupos de individuos que difieren en alguna característica fisiológica, como la susceptibilidad a una enfermedad, los científicos biomédicos pueden identificar SNP que muestran vínculo con rasgos fenotipos específicos. Este proceso se puede facilitar al enfocarse en **SNP marca**, subgrupo de SNP en un bloque dado suficiente para proporcionar un marcador singular para un haplotipo determinado. El estudio detallado de cada región debe revelar variantes en genes que contribuyen a una enfermedad o respuesta específica.

HapMap

En 2002, científicos de EUA, Canadá, China, Japón, Nigeria y el Reino Unido lanzaron el **mapa de haplotipo** International **Haplotype Map (HapMap) Project** (http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/), esfuerzo integral por identificar SNP relacionados con enfermedades frecuentes de seres humanos y respuestas diferenciales a compuestos farmacéuticos. El **HapMap Database** resultante debe llevar al diagnóstico más temprano y preciso, mejoras en la prevención y el manejo del paciente. El conocimiento del perfil genético de un sujeto también se empleará para guiar la selección de medicamentos o vacunas seguros y más eficaces, proceso llamado **farmacogenómica**. Estos marcadores genéticos también proporcionarán marcas con las cuales identificar y rastrear genes específicos a medida que los científicos tratan de aprender más acerca de los procesos cruciales de la herencia y la selección genéticas.

ENCODE

La identificación de todos los *elementos funcionales* del genoma extenderá mucho la comprensión de los eventos moleculares que fundamentan el desarrollo, la salud y la enfermedad de seres humanos. Para abordar este objetivo, a finales de 2003, el *National Human Genome Research Institute* (NHGRI) inició el **ENCODE (*Enc*yclopedia *O*f *D*NA *E*lements) Project.** Con sede en la University of California en Santa Cruz, ENCODE (http://www.genome.gov/10005107) es un esfuerzo colaborativo que combina métodos de laboratorio y computacionales para identificar cada elemento funcional en el genoma humano. Investigadores del consorcio con diversos trasfondos y experiencia colaboran en la creación y evaluación de nuevas técnicas, tecnologías y estrategias de alta capacidad de procesamiento para abordar las deficiencias actuales en la capacidad para identificar elementos funcionales.

La fase piloto de ENCODE se dirigió a ~1% (30 Mb) del genoma humano para análisis computacional y experimental riguroso. Se emplearon diversos métodos para identificar, o **anotar**, la función de cada porción del DNA en 500 pasos de pares de bases. Estos estudios piloto revelaron que el genoma humano contiene un gran número y diversidad de componentes activos entrelazados para formar redes complejas. La prosecución exitosa de este estudio piloto ha dado por resultado el patrocinio de una serie de Scale-Up Projects dirigidos a abordar el 99% restante del genoma.

Entrez Gene

***Entrez* Gene** (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=gene), base de datos mantenida por el *National Center for Biotechnology*

Information (NCBI), proporciona información variada acerca de genes humanos individuales. La información comprende la secuencia del genoma en el gen y alrededor del mismo, la estructura del gen (fronteras de exón-intrón), la secuencia de los mRNA producidos a partir del gen, y cualesquiera fenotipos relacionados con una mutación dada del gen en cuestión. *Entrez* Gene también lista (cuando se conoce) la función de la proteína codificada, y las repercusiones de polimorfismos de un solo nucleótido conocidos en la región codificadora.

dbGAP

db-GAP, la ***Database of Genotype and Phenotype*** (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gap), es una base de datos del NCBI que complementa a *Entrez* Gene. dbGAP compila los resultados de investigación sobre los enlaces entre genotipos y fenotipos específicos. Para proteger datos clínicos confidenciales, la información contenida en dbGAP está organizada en secciones de acceso abierto y de acceso controlado. El acceso a datos confidenciales exige que el usuario solicite autorización a un comité de acceso a datos.

Bases de datos adicionales

Otras bases de datos que tratan de genética y salud humanas son **OMIM**, *Online Mendelian Inheritance in Man* (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=omim), la **HGMD**, *Human Gene Mutation Database* (http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php), el ***Cancer Genome Atlas*** (http://cancergenome.nih.gov/) y ***GeneCards*** (http://www.genecards.org/), que trata de reunir cualquier información importante acerca de un gen dado a partir de bases de datos de todo el mundo, para crear una "ficha" única y completa para cada gen.

BIOLOGÍA COMPUTACIONAL

Su objetivo primario es crear modelos de computadora que apliquen principios físicos, químicos y biológicos para reproducir la conducta de moléculas y procesos biológicos. Al contrario de la bioinformática, cuyo principal enfoque es la reunión y evaluación de los datos existentes, la biología computacional es de naturaleza experimental y exploradora. Al efectuar experimentos y análisis virtuales ("*in silico*"), lo cual significa realizados en computadora o a través de una simulación de computadora, la biología computacional ofrece la promesa de acelerar mucho el ritmo y la eficiencia de los descubrimientos científicos.

Los biólogos computacionales están intentando crear modelos predictivos que permitirán 1) determinar de manera directa la estructura tridimensional de una proteína a partir de su secuencia primaria, 2) determinar la función de proteínas desconocidas a partir de su secuencia y estructura, 3) investigar inhibidores potenciales de una proteína *in silico*, y 4) construir células virtuales que reproduzcan la conducta y predigan las respuestas de sus homólogos vivos a agentes patógenos, toxinas, dieta y fármacos. La creación de algoritmos de computadora que imiten la conducta de proteínas, enzimas, células, etc., es promisoria en cuanto al incremento de la rapidez, eficiencia y seguridad de la investigación biomédica. La biología computacional también permitirá a los científicos llevar a cabo experimentos *in silico*, cuyo alcance, peligro o naturaleza los haga inaccesibles, o inapropiados, para métodos de laboratorio o clínicos convencionales.

Idioma	Palabra	Alineación
Inglés	PHYSIOLOGICAL	P H Y S I O L O G I - C A L
Francés	PHYSIOLOGIQUE	P H Y S I O L O G I - Q U E
Alemán	PHYSIOLOGISCH	P H Y S I O L O G I S C H
Holandés	FYSIOLOGISCH	F - Y S I O L O G I S C H
Español	FISIOLOGICO	F - I S I O L O G I - C O
Polaco	FIZJOLOGICZNY	F - I Z J O L O G I - C Z N Y

FIGURA 10–2 Representación de una alineación de secuencia múltiple. Los idiomas evolucionan de un modo que imita la manera en que lo hacen los genes y las proteínas. Aquí se muestra la palabra "*physiological*" del inglés en varios idiomas. La alineación demuestra sus características conservadas. Las identidades con la palabra en inglés se muestran en color rojo oscuro; las similitudes lingüísticas en azul oscuro. Los algoritmos de alineación de secuencia múltiple identifican letras de nucleótido y aminoácidos conservadas en DNA, RNA y polipéptidos de un modo análogo.

IDENTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS MEDIANTE HOMOLOGÍA

Un método importante para la identificación, también llamada **anotación**, de proteínas y productos de gen nuevos compara las secuencias de proteínas nuevas con las de proteínas cuyas función o estructuras se han determinado. Dicho de modo sencillo, las búsquedas de homología y las comparaciones de secuencia múltiple operan con base en el principio de que las proteínas que desempeñan funciones similares compartirán dominios conservados u otras características de secuencias o **motivos**, y viceversa (**figura 10-2**). De los muchos algoritmos creados para este propósito, el más ampliamente usado es el **BLAST**.

BLAST

Los orígenes del **BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*)** y otros algoritmos de comparación/alineación de secuencia se remontan a los esfuerzos de los primeros biólogos moleculares por determinar si las similitudes observadas en la secuencia entre proteínas que desempeñaban funciones metabólicas paralelas eran indicativas de cambio progresivo desde una proteína ancestral común. La principal pregunta evolutiva abordada fue si las similitudes reflejaban 1) descendencia desde una proteína ancestral común (**evolución divergente**) o 2) la selección independiente de un mecanismo común para satisfacer alguna necesidad celular específica (**evolución convergente**), como se anticiparía si una solución particular fuera abrumadoramente superior a las alternativas. El cálculo del número mínimo de cambios de nucleótido necesario para interconvertir isoformas de proteína putativas permite inferir si las similitudes y diferencias muestran o no un modelo que indique cambio progresivo desde un origen compartido.

El BLAST ha evolucionado hacia una familia de programas optimizados para abordar necesidades y conjuntos de datos específicos. De esta manera, **blastp** compara una secuencia de consulta de *aminoácidos* contra una base de datos de secuencia de *proteína*, **blastn** compara una secuencia de consulta de

nucleótido contra una base de datos de secuencia de *nucleótido*, **blastx** compara una secuencia de consulta de *nucleótidos* traducida en todos los marcos de lectura contra una base de datos de secuencia de *proteína* para revelar productos de traducción potenciales, **tblastn** compara una secuencia de consulta de *proteína* contra una base de datos de secuencia de *nucleótido* traducidos dinámicamente en los seis marcos de lectura, y **tblastx** compara las traducciones de seis armazones de una secuencia de consulta de *nucleótido* contra las traducciones de seis armazones de una base de datos de secuencia de *nucleótido.* Al contrario de los programas de alineación de secuencia múltiple que se fundamentan en alineaciones *globales*, en los algoritmos de **BLAST** se recalcan regiones de alineación *local* para detectar vínculos entre secuencias con sólo regiones de similitud aisladas. Este método proporciona rapidez y sensibilidad aumentada para relaciones de secuencia distantes. Las secuencias de entrada o "consulta" se fragmentan hacia "palabras" (tamaño por omisión 11 para nucleótidos, 3 para aminoácidos); entonces, los aciertos de palabra a bases de datos se extienden en ambas direcciones.

IDENTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS "DESCONOCIDAS"

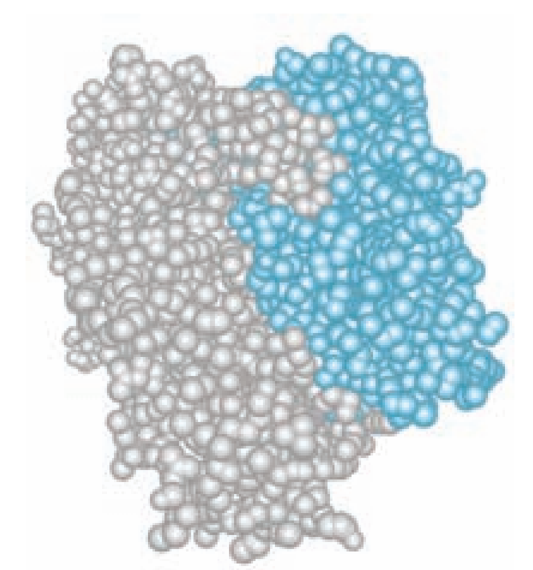
Una porción considerable de los genes descubiertos mediante proyectos de secuenciación del genoma codifica para polipéptidos "desconocidos" o hipotéticos, para los cuales se carece de homólogos de función conocida. Especialistas en bioinformática están creando instrumentos para permitir a científicos deducir la estructura tridimensional y la función de proteínas crípticas directamente a partir de sus secuencias de aminoácidos. Hoy, la lista de proteínas desconocidas descubiertas por medio de genómica contiene miles de entradas; se están añadiendo nuevas entradas conforme se resuelven más secuencias del genoma. La capacidad para generar estructuras e inferir la función *in silico* promete acelerar de modo importante la identificación de proteína, y proporcionar información acerca del mecanismo mediante el cual las proteínas se pliegan. Este conocimiento ayudará a entender los mecanismos subyacentes de diversas enfermedades que dependen del plegado de proteínas, y ayudará a los ingenieros moleculares a diseñar nuevas proteínas para efectuar funciones nuevas.

El código de plegamiento

La comparación de proteínas cuyas estructuras tridimensionales se han determinado mediante cristalografía de rayos X o espectroscopia con NMR puede revelar patrones que enlazan características de secuencia primaria específicas con estructuras primaria, secundaria y terciaria —lo que a veces se llama el código de plegamiento—. En los primeros algoritmos se usó la frecuencia con la cual aminoácidos individuales ocurrieron en hélices alfa, hojas beta, giros y asas para predecir el número y la ubicación de estos elementos dentro de la secuencia de un polipéptido, conocida como **topografía de estructura secundaria**. Al extender este proceso, por ejemplo, al sopesar las repercusiones de interacciones hidrofóbicas en la formación del centro de la proteína, se están creando algoritmos de notoria fiabilidad predictiva. Con todo, si bien los programas actuales tienen buen desempeño en la generación de las conformaciones de proteínas constituidas por dominios únicos, aún es problemático proyectar la estructura probable de proteínas de membrana y las compuestas de múltiples dominios.

Relación de la estructura tridimensional con la función

Los científicos también están intentando discernir patrones de estructura tridimensional que se correlacionen con funciones fisiológicas específicas. La representación llenadora de espacio de la enzima HMG-CoA reductasa y su complejo con el medicamento lovastatina (**figura 10-3**) proporciona cierta perspectiva acerca de los desafíos inherentes a la identificación de sitios de unión a



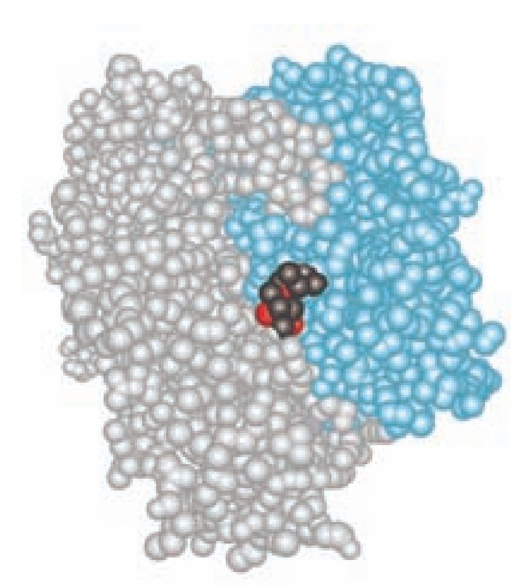


FIGURA 10–3 Representaciones de llenado de espacio de la HMG-CoA reductasa homodimérica de *Pseudomonas mevalonii* con (derecha) y sin (izquierda) el medicamento estatina lovastatina unido. Cada átomo está representado por una esfera del tamaño de su radio de van der Waals. Las dos cadenas polipeptídicas están resaltadas con colores gris y azul. Los átomos de carbono de la lovastatina se muestran con color negro, y los átomos de oxígeno, en rojo. Compare este modelo con las representaciones de esqueleto de proteínas mostradas en los capítulos 5 y 6. (Adaptada de Protein Data Bank ID no. 1t02.)

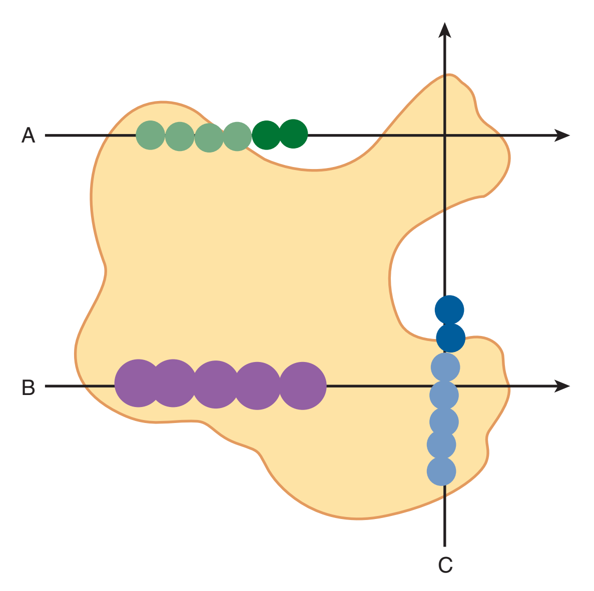


FIGURA 10–4 Representación simplificada de un programa de predicción de sitio de ligando. Los programas de predicción de sitio de ligando, como POCKET, LIGSITE, o Pocket-Finder, convierten la estructura tridimensional de una proteína en un juego de coordenadas para los átomos que la componen. Un corte bidimensional del espacio lleno por estas coordenadas se presenta como un contorno de forma irregular (amarillo). A continuación se introduce repetidas veces una sonda redonda por estas coordenadas a lo largo de líneas que tienen una trayectoria paralela a cada uno de los tres ejes de coordenadas (A, B, C). Los círculos con sombreado claro representan posiciones de la sonda donde su radio se superpone con uno o más átomos en el juego de coordenadas cartesianas. Los círculos con sombreado oscuro representan posiciones donde ninguna coordenada de átomo de proteína cae dentro del radio de la sonda. Para que se reúnan las características necesarias de una bolsa o hendidura dentro de la proteína, y no sólo espacio abierto fuera de esta última, la sonda debe encontrar finalmente átomos de proteína que yacen en el otro lado de la abertura (C).

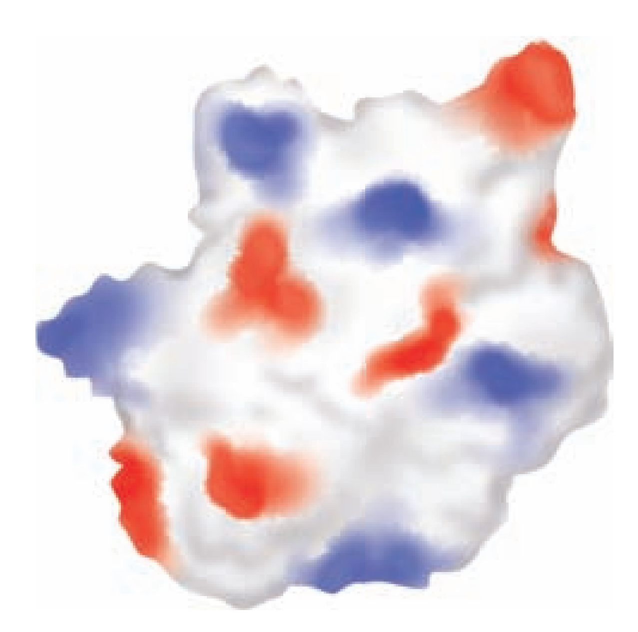


FIGURA 10–5 Representación de un diagrama GRASP que indica las características topográficas electrostáticas de una proteína. Se muestra una representación de llenado de espacio de una proteína hipotética. Las áreas sombreadas de color rojo indican la presencia de cadenas laterales de aminoácidos u otras porciones sobre la superficie de la proteína que se predice que portan una carga negativa a pH neutro. El color azul indica la presencia de grupos con carga positiva predichos. El color blanco denota áreas que se predice que son neutras desde el punto de vista electrostático.

ligando a partir de cero. Donde se puede determinar o predecir una estructura tridimensional completa, la superficie de la proteína se puede escanear respecto a los tipos de bolsas y hendiduras indicativos de sitios de unión probables para sustratos, efectores alostéricos, etc., mediante cualquiera de diversos métodos, como el rastreo de su superficie con esferas de una dimensión particular (**figura 10-4**). Los mapas de superficie generados con el programa *Graphical Representation and Analysis of Surface Properties*, comúnmente denominados **diagramas GRASP**, ponen de relieve las ubicaciones de grupos funcionales neutros, con carga negativa y con carga positiva sobre la superficie de una proteína (**figura 10-5**) para inferir un cuadro más detallado de la biomolécula que se une o "acopla" en ese sitio. La estructura predicha de los ligandos que se unen a una proteína desconocida, junto con otras características estructurales y motivos de secuencia, a continuación pueden proporcionar a los científicos los indicios necesarios para hacer una "conjetura educada" respecto a su o sus funciones biológicas.

DISEÑO DE FÁRMACOS AUXILIADO POR COMPUTADORA

En el **Computer-*Aided* Drug *Design* (CADD)** se emplea el mismo tipo de algoritmos de acoplamiento molecular usados para identificar ligandos para proteínas desconocidas. Aun así, en este caso el conjunto de ligandos potenciales por considerar no se confina a los que existen en la Naturaleza, y es auxiliado mediante el conocimiento empírico de la estructura o de las características funcionales de la proteína establecida como objetivo.

Algoritmos de acoplamiento molecular

Para proteínas de estructura tridimensional conocida, en los métodos de acoplamiento molecular se emplean programas que intentan adaptar una serie de ligandos potenciales ("clavijas") hacia un sitio de unión designado "agujero" en la plantilla de una proteína. Para identificar ligandos óptimos, los programas de acoplamiento han de tomar en cuenta tanto la coincidencia de formas como la presencia y posición de atributos hidrofóbicos, hidrofílicos y de carga complementarios. Las afinidades de unión de los inhibidores seleccionados con base en estudios de acoplamiento tempranos fueron desalentadoras, dado que los modelos rígidos para proteínas y ligandos empleados fueron incapaces de replicar los cambios conformacionales que sobrevienen tanto en el ligando como en la proteína como una consecuencia de unión, fenómeno denominado *adaptación inducida* (cap. 7).

Como quiera que sea, dotar a proteínas y ligandos de flexibilidad conformacional requiere de un poder de computación masivo. De esta manera, se han creado métodos híbridos que emplean un conjunto de plantillas que representan conformaciones un poco diferentes de la proteína (**figura 10-6**) y conjuntos de conformadores de ligando (**figura 10-7**) o ligandos en los cuales sólo se permite que algunos enlaces seleccionados roten con libertad. Una vez que se ha estrechado el conjunto de ligandos

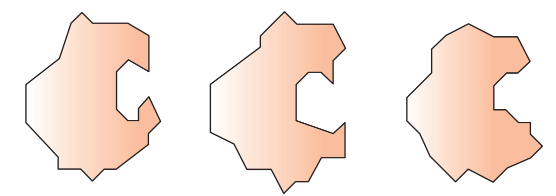


FIGURA 10–6 Representación bidimensional de una serie de conformaciones de una proteína. Note cómo cambia la forma del sitio de unión.

potenciales, es posible emprender análisis de acoplamiento más complejos para identificar ligandos de afinidad alta capaces de interactuar con su blanco proteínico a través del espectro de estados conformacionales de este último.

Relaciones entre estructura y actividad

Cuando no se dispone de una plantilla estructural para la proteína de interés, pueden usarse computadoras para ayudar a buscar inhibidores de alta afinidad al calcular **relaciones de estructura-actividad (SAR)** y proyectarlas. En este proceso, las afinidades de unión medidas para varios inhibidores conocidos se comparan y contrastan a fin de determinar si características químicas específicas hacen contribuciones termodinámicas positivas o negativas a la unión a ligando. A continuación, esta información puede usarse para buscar en bases de datos de compuestos químicos a fin de identificar los que poseen una combinación más promisoria de características positivas en contraposición con negativas.

BIOLOGÍA DE SISTEMAS Y CÉLULAS VIRTUALES

El objetivo de la biología de sistemas es construir diagramas de circuitos moleculares

¿Qué pasaría si un científico pudiera detectar, en algunos momentos, el efecto de inhibir una enzima particular, de remplazar un gen particular, la respuesta de una célula muscular a la insulina, la proliferación de una célula cancerosa, o la producción de amiloide beta al ingresar la pregunta apropiada en una computadora? El objetivo de la **biología de sistemas** es construir el equivalente molecular de diagramas de circuito que describan fielmente los componentes de una unidad funcional particular y las interacciones entre ellos en términos lógicos o matemáticos. Estas unidades funcionales pueden variar de tamaño y complejidad desde las enzimas y los metabolitos dentro de una vía biosintética a la red de proteínas que controlan el ciclo de división celular, hasta, finalmente, células, órganos y organismos enteros. Dichos modelos pueden usarse entonces para efectuar experimentos "virtuales" que pueden aumentar la rapidez y eficiencia de investigaciones empíricas al identificar las líneas de investigación más promisorias y ayudar en la evaluación de los resultados. Lo que tal vez es más importante, la capacidad de realizar experimentos virtuales extiende la búsqueda del investigador,

FIGURA 10–7 Conformadores de un ligando simple. Se muestran tres de las muchas conformaciones diferentes de la glucosa, comúnmente denominadas silla (arriba), bote retorcido (*twist boat*) (en medio) y media silla (abajo). Nótense las diferencias no sólo de la forma y de lo compacto, sino de la posición de los grupos hidroxilo, los participantes potenciales en enlaces de hidrógeno, como se pone de relieve en color rojo.

dentro de los límites de la exactitud del modelo, más allá del alcance de la tecnología empírica actual.

Ya se están realizando progresos significativos. Al construir redes moleculares virtuales, los científicos han logrado determinar de qué modo las cianobacterias construyen un reloj circadiano fiable usando sólo cuatro proteínas. Modelos de la vía de emisión de señales de receptor de célula T han revelado de qué manera estos circuitos moleculares se han ordenado para producir respuestas parecidas a conmutador en el momento de la estimulación por complejos de péptido agonista-complejo principal de histocompatibilidad (MHC) sobre una célula presentadora de antígeno. Del mismo modo que una persona construye un rompecabezas, en parte, al buscar en las piezas restantes coincidencias a los vacíos en el rompecabezas, los científicos también pueden usar los vacíos encontrados en el modelado de sistemas moleculares y celulares para guiar la identificación y anotación de las piezas de proteína restantes. Este método de ingeniería inversa se ha usado con buenos resultados para definir la función de las glicerato 2-cinasas tipo II en bacterias, y para identificar síntesis de folato "críptico" y transportar genes en plantas.

Células virtuales

Recientemente, los científicos han logrado crear de manera exitosa una red metabólica sostenible, compuesta de cerca de 200 proteínas, un paso importante hacia la creación de una **célula virtual**. El "Santo Grial" de los biólogos de sistemas es replicar la conducta de células humanas vivas *in silico.* Los beneficios potenciales de esas células virtuales serán enormes. No sólo permitirán identificar sitios óptimos para intervención terapéutica de un modo rápido y sin sesgos, sino que los efectos secundarios no

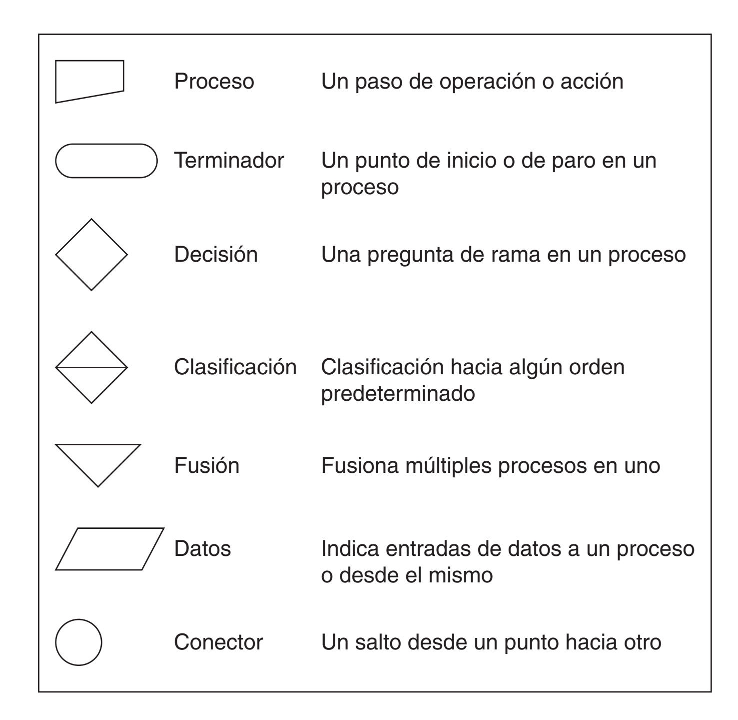
intencionales pueden revelarse antes de la decisión de invertir tiempo y recursos en la síntesis, el análisis y los estudios de un farmacóforo potencial. La capacidad para efectuar investigación toxicológica rápida y económica de materiales que varían desde herbicidas hasta cosméticos beneficiará la salud de los seres humanos. Las células virtuales también son útiles en el diagnóstico. Al manipular una célula virtual para que reproduzca el perfil metabólico de un enfermo, quizá se revelen anormalidades genéticas subyacentes. Es factible analizar de manera sistemática la interrelación de los diversos factores ambientales, de la dieta y genéticos que contribuyen a enfermedades multifactoriales como el cáncer. Estudios preliminares de terapias génicas potenciales pueden evaluarse con seguridad y rapidez en forma de programas informáticos (*in silico*).

La duplicación de una célula viva en forma de programas informáticos (*in silico*) representa una empresa en extremo formidable. No sólo es necesario que la célula virtual posea todas las proteínas y todos los metabolitos para el tipo de célula que se va a modelar (p. ej., de cerebro, hígado, nervio, músculo o adipocito), sino que éstos deben estar presentes en la concentración y la ubicación subcelular apropiadas. El modelo también ha de tomar en cuenta la dinámica funcional de sus componentes, afinidades de unión, eficiencia catalítica, modificaciones covalentes, etc. Hacer a una célula virtual capaz de dividirse o diferenciarse conllevará otro enorme salto de complejidad y sofisticación.

En los mapas de interacción molecular se emplea lógica simbólica

Los modelos construidos por biólogos de sistemas pueden adoptar diversas formas dependiendo de los usos para los cuales estén proyectados, y los datos disponibles para guiar su construcción. Si se desea modelar el flujo de metabolitos por una vía anabólica o catabólica, no basta con conocer las identidades y los reactantes involucrados en cada reacción catalizada por enzima. Para obtener valores matemáticamente precisos, es necesario conocer las concentraciones de los metabolitos en cuestión, la cantidad de cada una de las enzimas presentes, y sus parámetros catalíticos.

Para la mayoría de los usuarios, es suficiente que en un modelo se describa y se prediga la naturaleza cualitativa de las interacciones entre componentes. ¿Un ligando alostérico activa la enzima o la inhibe? ¿La disociación de un complejo proteínico lleva a la degradación de uno o más de sus componentes? Para este propósito se necesitó un grupo de símbolos que describieran la lógica simbólica de estas interacciones. En las primeras representaciones con frecuencia se usaron los símbolos creados con anterioridad para construir diagramas de flujo (programación de computadoras) o circuitos electrónicos (**figura 10-8**, arriba). Sin embargo, finalmente los biólogos de sistemas diseñaron símbolos dedicados (figura 10-8, abajo) para describir estos diagramas de circuitos moleculares, más comúnmente llamados **mapas de interacción molecular (MIM)**, de los cuales se muestra un ejemplo en la **figura 10-9**. Lamentablemente, como sucede en la nomenclatura de las enzimas (capítulo 7), aún no surge un grupo de símbolos consistente y universal.



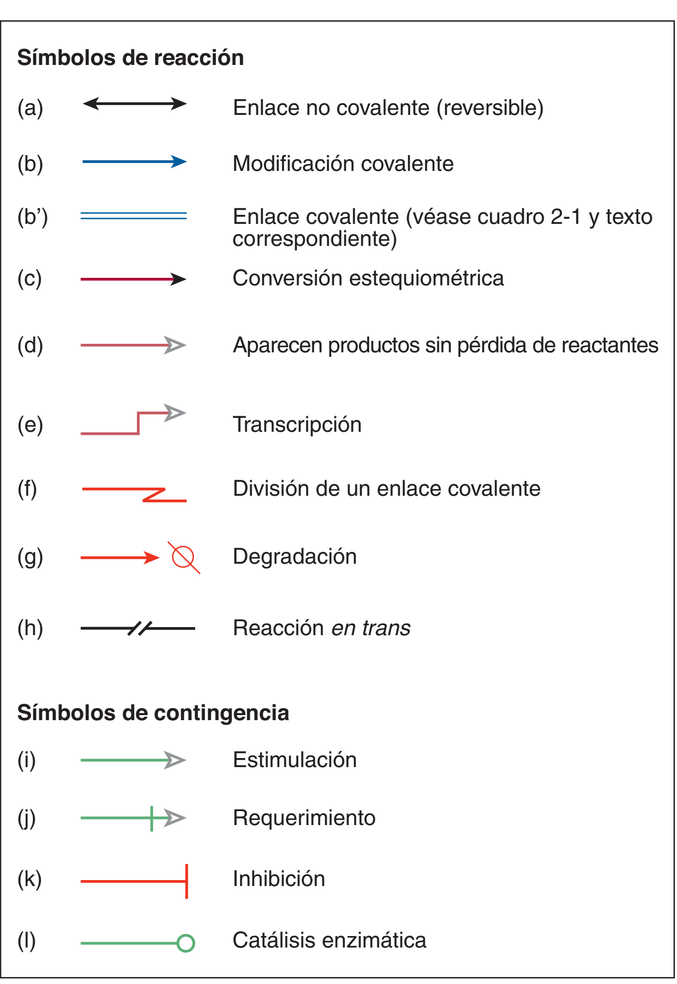


FIGURA 10–8 Símbolos usados para construir diagramas de circuito moleculares en biología de sistemas. (Arriba) símbolos de diagrama de flujo muestra. (Abajo) símbolos gráficos para mapas de interacción molecular. (Adaptada de Kohn KW *et al*.: Molecular interaction maps of bioregulatory networks: a general rubric for systems biology. Mol Biol Cell 2006;17:1.)

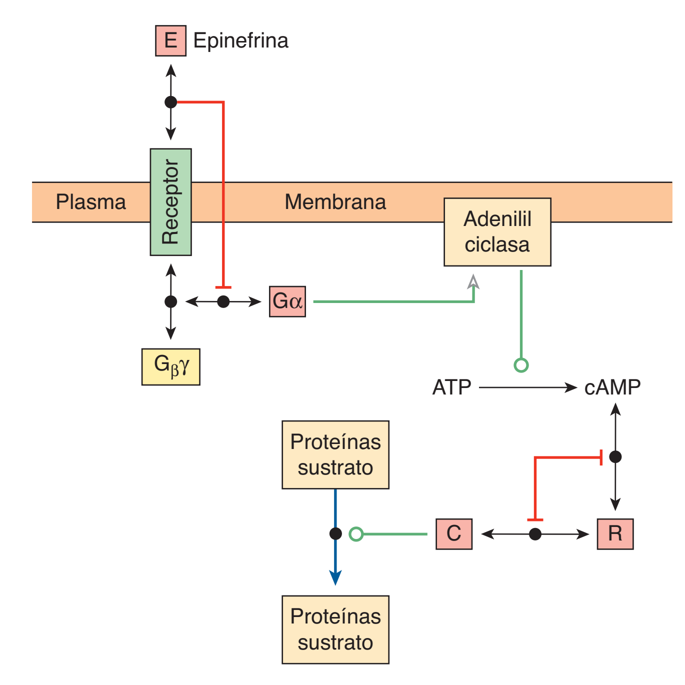


FIGURA 10–9 Representación de una red de interacción molecular (MIN) que describe una cascada de transducción de señal que lleva a la fosforilación de proteínas sustrato por la subunidad catalítica, C, de la proteína cinasa dependiente de AMP cíclico en respuesta a la epinefrina. Las proteínas se representan como rectángulos o cuadrados. Las flechas con doble punta indican la formación de complejo no covalente representado por un punto a la mitad de la flecha. Las líneas de color rojo con extremos en forma de T indican interacción inhibidora. La flecha verde con punta hueca indica una interacción estimuladora. La línea de color verde con un círculo blanco en el extremo indica catálisis. La flecha de color azul con P indica modificación covalente por medio de fosforilación. (Símbolos adaptados de Kohn KW *et al*.: Molecular interaction maps of bioregulatory networks: a general rubric for systems biology. Mol Biol Cell 2006;17:1.)

CONCLUSIÓN

Los campos en rápida evolución de la bioinformática y la biología computacional hacen promesas sin precedente para el futuro tanto de la medicina como de la biología básica. Algunas promesas en la actualidad se perciben de manera clara, otras vagamente, mientras que algunas más ni siquiera se han imaginado. Un objetivo importante de los biólogos computacionales es crear recursos de computadora que incrementarán la eficiencia, eficacia y rapidez de la creación de medicamentos. Los epidemiólogos emplean computadoras para extraer patrones dentro de una población indicativos de causas específicas tanto de enfermedad como de bienestar, y de factores que contribuyen a ambos. Parece haber poca duda de que sus repercusiones sobre la práctica médica durante el siglo XXI serán iguales o superarán la del descubrimiento de la patogenia bacteriana en el siglo XIX.

RESUMEN

- La genómica ha proporcionado una cantidad masiva de información de gran valor potencial para científicos y médicos.
- La bioinformática comprende el diseño de algoritmos de computadora y la construcción de bases de datos que permiten a los científicos tener acceso a la avalancha creciente de datos biomédicos y analizarlos.
- El objetivo de la epidemiología es extraer información médica a partir de la conducta de poblaciones de seres humanos heterogéneas mediante la aplicación de instrumentos estadísticos sofisticados.
- Los desafíos importantes en la construcción de bases de datos fáciles de emplear incluyen idear medios para almacenar y organizar datos complejos que se adaptan a una amplia gama de criterios de búsqueda potenciales.
- El objetivo del *Encode Project* es identificar todos los elementos funcionales dentro del genoma humano.
- Las bases de datos HapMap, *Entrez* Gene y dbGAP contienen datos respecto al vínculo entre mutaciones genéticas y estados patológicos.
- En la biología computacional se usan algoritmos de computadora para identificar proteínas desconocidas y llevar a cabo experimentos virtuales.
- BLAST se usa para identificar proteínas y genes desconocidos al buscar homólogos de secuencia de función conocida.
- Los biólogos computacionales están creando programas que predecirán la estructura tridimensional de proteínas directamente a partir de su secuencia primaria.
- El diseño ayudado por computadora acelera el descubrimiento de fármacos al tratar de acoplar inhibidores potenciales a blancos proteínicos seleccionados en forma de programas informáticos.
- Un objetivo principal de los biólogos de sistemas es crear modelos fieles de vías y redes individuales para dilucidar principios funcionales y efectuar experimentos virtuales.
- El objetivo final de los biólogos de sistemas es crear células virtuales que puedan usarse para diagnosticar y tratar enfermedades con mayor seguridad y eficiencia, en especial las de naturaleza multifactorial.
- Los biólogos de sistemas por lo general construyen representaciones esquemáticas conocidas como **mapas de interacción molecular**, en los cuales se emplea lógica simbólica para ilustrar las relaciones entre los componentes que constituyen una vía o alguna otra unidad funcional.

REFERENCIAS

Altschul SF, Gish W, Miller W, et al: Basic local alignment search tool. J Mol Biol 1990;215:403.

Collins FS, Barker AD: Mapping the human cancer genome. Sci Am 2007;296:50.

Collins FS, Green ED, Guttmacher AE, et al: A vision for the future of genomics research. A blueprint for the genomic era. Nature 2003;422:835.

Couzin J: The HapMap gold rush: researchers mine a rich deposit. Science 2006;312:1131.

Cravatt BF, Wright AT, Kozarich JW: Activity-based protein profiling: from enzyme chemistry to proteomic chemistry. Annu Rev Biochem 2008;77:383.

Debes JD, Urrutia R: Bioinformatics tools to understand human diseases. Surgery 2004;135:579.

Dunning Hotopp JC, Grifantini R, Kumar N, et al: Comparative genomics of *Neisseria meningitides:* core genome, islands of horizontal transfer and pathogen-specific genes. Microbiology 2006;152:3691.

Ekins S, Mestres J, Testa B: *In silico* pharmacology for drug discovery: applications to targets and beyond. Br J Pharmacol 2007;152:21.

Ekins S, Mestres J, Testa B: *In silico* pharmacology for drug discovery: methods for virtual ligand screening and profiling. Br J Pharmacol 2007;152:9.

Kaiser J: Affordable 'exomes' fill gaps in a catalog of rare diseases. Science 2010;330:903.

Kim JH: Bioinformatics and genomic medicine. Genet Med 2002;4:62S.

Kohn KW, Aladjem MI, Weinstein JN, et al: Molecular interaction maps of bioregulatory networks: a general rubric for systems biology. Mol Biol Cell 2006;17:1.

Koonin EV, Galperin MY: *Sequence—Evolution—Function. Computational Approaches to Comparative Genomics.* Kluwer Academic Publishers, 2003.

Laurie ATR, Jackson RM: Methods for prediction of protein-ligand binding sites for structure-based drug design and virtual ligand screening. Curr Prot Peptide Sci 2006;7:395–406.

McInnes C: Virtual screening strategies in drug discovery. Curr Opin Cell Biol 2007;11:494.

Nebert DW, Zhang G, Vesell ES: From human genetics and genomics to pharmacogenetics and pharmacogenomics: past lessons, future directions. Drug Metab Rev 2008; 40:187.

Sansom C: Genes and disease. The Scientist 2008;30:34.

Slepchenko BM, Schaff JC, Macara I, et al: Quantitative cell biology with the Virtual Cell. Trends Cell Biol 2003;13:570.

Sudmant PH, Kitzman JO, Antonacci F, et al: Diversity of human gene copy number variation and multicopy genes. Science 2010; 330:641.

Villoutreix BO, Renault N, Lagorce D, et al: Free resources to assist structure-based virtual ligand screening experiments. Curr Protein Pept Sci 2007;8:381.

Preguntas de examen

Sección I

1. La propensión de los átomos de agua a formar enlaces de hidrógeno entre sí es el factor primario del cual dependen todas las propiedades del agua que siguen, EXCEPTO:
   A. Su punto de ebullición atípicamente alto.
   B. Su calor de vaporización alto.
   C. Su tensión de superficie alta.
   D. Su capacidad para disolver hidrocarburos.
   E. Su expansión en el momento de la congelación.

2. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Las cadenas laterales de los aminoácidos cisteína y metionina absorben luz visible.
   B. La glicina a menudo está presente en regiones donde un polipéptido forma una flexión aguda, lo cual revierte la dirección del mismo.
   C. Los polipéptidos se nombran como derivados del residuo aminoacilo C terminal.
   D. Los átomos de C, N, O y H de un enlace peptídico son coplanares.
   E. Un pentapéptido lineal contiene cuatro enlaces peptídicos.

3. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Los amortiguadores del tejido de seres humanos son bicarbonato, proteínas y ortofosfato.
   B. Un ácido débil o una base débil muestra su mayor capacidad amortiguadora cuando el pH es igual a su pK_a más o menos una unidad de pH.
   C. El pH isoeléctrico (pI) de la lisina puede calcularse usando la fórmula (pK_2 + pK_3)/2.
   D. La movilidad de un ácido débil monofuncional en un campo eléctrico de corriente directa alcanza su máximo cuando el pH de su ambiente circunvecino es igual a su pK_a.
   E. En aras de la sencillez, la fuerza de las bases débiles por lo general se expresa como la pK_a de sus ácidos conjugados.

4. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Si la pK_a de un ácido débil es de 4.0, 50% de las moléculas estará en el estado disociado cuando el pH del ambiente circundante es de 4.0.
   B. Un ácido débil con una pK_a de 4.0 será un amortiguador más eficaz a pH de 3.8 que a pH de 5.7.
   C. A un pH igual a su pI, un polipéptido no porta grupos cargados.
   D. Los ácidos y bases fuertes se llaman así porque pasan por disociación completa cuando están disueltos en agua.
   E. La pK_a de un grupo ionizable puede estar influida por las propiedades físicas y químicas de su ambiente circundante.

5. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Para calcular la K_{eq}, la constante de equilibrio para una reacción, se divide la tasa inicial de reacción hacia adelante (índice$_1$) por la velocidad inicial de la reacción reversa (índice$_{-1}$).
   B. La presencia de una enzima no tiene efectos sobre la K_{eq}.
   C. Para una reacción conducida a temperatura constante, la fracción de las moléculas de reactante potenciales que poseen suficiente energía cinética para exceder la energía de activación de la reacción es una constante.
   D. Las enzimas y otros catalíticos disminuyen la energía de activación de reacciones.
   E. El signo algebraico de ΔG, el cambio de energía libre de Gibbs para una reacción, indica la dirección en la cual procederá una reacción.

6. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Como se usa en bioquímica, la concentración de estado estándar para productos y reactantes que no son protones es 1 molar.
   B. ΔG es una función del logaritmo de K_{eq}.
   C. Como se usa en cinética de reacción, el término "espontaneidad" se refiere a que si la reacción como está escrita es favorecida para que proceda de izquierda a derecha.
   D. ΔG^o denota un cambio de la energía libre que acompaña la transición desde el estado estándar hacia el equilibrio.
   E. En el momento en que se alcanza equilibrio, las tasas de la reacción hacia adelante y reversa disminuyen a cero.

7. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Las enzimas disminuyen la energía de activación para una reacción.
   B. Otro medio mediante el cual las enzimas disminuyen la energía de activación es al desestabilizar intermediarios de estado de transición.
   C. Los residuos histidilo de sitio activo a menudo ayudan a la catálisis al actuar como donadores de protones o como aceptores de los mismos.
   D. Algunas enzimas emplean catálisis covalente para proporcionar una vía de reacción única.
   E. La presencia de una enzima no tiene efectos sobre el ΔG^o.

8. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Para casi todas las enzimas, la relación de [S] y la tasa de reacción inicial, v_i, da una curva hiperbólica.
   B. Cuando [S] es mucho más bajo que K_m, el término K_m + [S] en la ecuación de Michaelis-Menten se aproxima mucho a K_m. En estas condiciones, la tasa de catálisis es una función lineal de [S].
   C. Las concentraciones molares de sustrato y productos son iguales cuando la tasa de una reacción catalizada por enzima alcanza la mitad de su máximo potencial ($V_{máx}$/2).
   D. Se dice que una enzima ha quedado saturada con sustrato cuando el aumento sucesivo de [S] no produce un incremento importante de v_i.
   E. Cuando se hacen mediciones de tasa de estado estable, la concentración de sustratos debe exceder mucho la del catalítico enzimático.

9. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
   A. Ciertas enzimas monoméricas muestran cinética de tasa inicial sigmoidea.
   B. La ecuación de Hill se usa para realizar análisis cuantitativo de conducta cooperativa de enzimas o proteínas de transporte, como hemoglobina o calmodulina.

C. Para una enzima que muestra unión cooperativa de sustrato, se dice que un valor de n (el coeficiente de Hill) de más de la unidad muestra cooperatividad positiva.
D. Se dice que una enzima que cataliza una reacción entre dos o más sustratos opera mediante un mecanismo secuencial si los sustratos deben unirse en un orden fijo.
E. Los grupos prostéticos permiten a las enzimas añadir capacidades más allá de las proporcionadas por cadenas laterales de aminoácidos.

10. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
A. IC_{50} es un término operacional sencillo para expresar la potencia de un inhibidor.
B. En los gráficos de Lineweaver-Burk y de Dixon se emplean versiones reordenadas de la ecuación de Michaelis-Menten para generar representaciones lineales de conducta e inhibición cinéticas.
C. Un gráfico de $1/v_i$ en contraposición con $1/[S]$ puede usarse para evaluar el tipo de un inhibidor y la magnitud del mismo.
D. Los inhibidores simples no competitivos disminuyen la K_m aparente para un sustrato.
E. Los inhibidores no competitivos típicamente tienen poca o ninguna semejanza estructural con el o los sustratos de una reacción catalizada por enzima.

11. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
A. Para una enzima dada, las concentraciones intracelulares de sus sustratos tienden a estar cerca de sus valores de K_m.
B. El secuestro de ciertas vías dentro de orgánulos intracelulares facilita la tarea de la regulación metabólica.
C. El paso más temprano en una vía bioquímica en la cual puede ejercerse con eficiencia control regulador es el primer paso comprometido.
D. Regulación por retroacción se refiere al control alostérico de un paso temprano en una vía bioquímica por el o los productos finales de esa vía.
E. El control metabólico es más eficaz cuando uno de los pasos rápidos en una vía es establecido como objetivo para regulación.

12. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
A. Un objetivo importante de la proteómica es identificar todas las proteínas presentes en una célula en diferentes condiciones, así como sus estados de modificación.
B. La espectrometría de masa ha remplazado en su mayor parte al método de Edman para la secuenciación de péptidos y proteínas.
C. El reactivo de Sanger fue una mejoría del de Edman porque el primero genera un amino terminal nuevo, lo que permite que tengan lugar varios ciclos de secuenciación consecutivos.
D. Puesto que la masa es una propiedad universal de todos los átomos y moléculas, la espectrometría de masa es ideal para la detección de modificaciones postraduccionales en proteínas.
E. Los espectrómetros de masa de tiempo de vuelo aprovechan la relación $F = ma$.

13. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
A. La cromatografía de intercambio iónico separa proteínas con base en el signo y la magnitud de su carga a un pH dado.
B. La electroforesis en gel bidimensional separa proteínas en primer lugar con base en sus valores de pI, y en segundo lugar con base en su proporción entre carga y masa usando SDS.
C. La cromatografía de afinidad explota la selectividad de interacciones entre proteína y ligando para aislar una proteína específica a partir de una mezcla compleja.
D. Muchas proteínas recombinantes son expresadas con un dominio adicional fusionado a su N o C terminal. Un componente común de estos dominios de fusión es un sitio de unión a ligando diseñado expresamente para facilitar la purificación mediante cromatografía de afinidad.
E. La espectrometría de masa en tándem permite analizar péptidos derivados de mezclas de proteína complejas sin su separación previa.

14. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
A. El plegamiento de proteína es auxiliado por la intervención de proteínas auxiliares especializadas llamadas chaperones.
B. El plegamiento de proteína tiende a ser molecular, con áreas de estructura secundaria local que se forman primero y después muestran coalescencia hacia un glóbulo fundido.
C. El plegamiento de proteína es impulsado ante todo por las propiedades termodinámicas de las moléculas de agua que rodean el polipéptido naciente.
D. La formación de enlaces S-S en una proteína madura es facilitada por la enzima proteína disulfuro isomerasa.
E. Sólo algunas proteínas poco comunes, como el colágeno, requieren procesamiento postraduccional mediante proteólisis parcial para alcanzar su conformación madura.

15. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
A. Las modificaciones postraduccionales de proteínas pueden afectar tanto su función como su destino metabólico.
B. El estado conformacional natural suele ser aquel que es favorecido termodinámicamente.
C. Las estructuras tridimensionales complejas de casi todas las proteínas se forman y estabilizan por los efectos acumulativos de un gran número de interacciones débiles.
D. Los científicos de investigación emplean disposiciones de genes para la detección, con alta capacidad de procesamiento, de la presencia de proteínas y el nivel de expresión de las mismas.
E. Los ejemplos de interacciones débiles que estabilizan el plegamiento de proteína son enlaces de hidrógeno, puentes de sal y fuerzas de van der Waals.

16. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
A. Los cambios de configuración involucran la rotura de enlaces covalentes.
B. Los cambios de conformación involucran la rotación de uno o más enlaces únicos.
C. El gráfico de Ramachandran ilustra el grado al cual el obstáculo estérico limita los ángulos permisibles de los enlaces únicos en el esqueleto de un péptido o una proteína.
D. La formación de una hélice α es estabilizada mediante los enlaces de hidrógeno entre cada oxígeno carboxilo unido a péptido y el grupo N-H del siguiente enlace peptídico.
E. En una hoja β los grupos R de residuos adyacentes apuntan en direcciones opuestas respecto al plano de la hoja.

17. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
A. El descriptor $\alpha_2\beta_2\gamma_3$ denota una proteína con siete subunidades de tres tipos diferentes.
B. Las asas son regiones extendidas que conectan regiones adyacentes de estructura secundaria.
C. Más de la mitad de los residuos en una proteína típica reside en hélices α u hojas β.
D. Casi todas las hojas β tienen un giro diestro.
E. Los priones son virus que causan enfermedades del plegamiento de proteína que atacan el cerebro.

18. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
    A. El efecto Bohr se refiere a la liberación de protones que ocurre cuando el oxígeno se une a la desoxihemoglobina.
    B. Poco después del nacimiento del lactante humano, hay inducción rápida de la síntesis de la cadena α hasta que comprende 50% del tetrámero de hemoglobina.
    C. La cadena β de la hemoglobina fetal está presente durante toda la gestación.
    D. Las talasemias son defectos genéticos debidos a falta parcial o total de las cadenas α o β de la hemoglobina.
    E. La conformación tensa de la hemoglobina es estabilizada por varios puentes de sal que se forman entre las subunidades.

19. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
    A. El obstáculo estérico por la histidina E7 desempeña un papel crucial en el debilitamiento de la afinidad de la hemoglobina por el monóxido de carbono (CO).
    B. La anhidrasa carbónica desempeña un papel crucial en la respiración en virtud de su capacidad para desintegrar 2,3-bisfosfoglicerato en los pulmones.
    C. La hemoglobina S se distingue por una mutación genética que sustituye Glu6 en la subunidad β con Val, lo que crea un parche pegajoso en la superficie.
    D. La oxidación del hierro hem desde el estado +2 hacia el estado +3 suprime la capacidad de la hemoglobina para unirse al oxígeno.
    E. Las diferencias funcionales entre la hemoglobina y la mioglobina reflejan en un alto grado diferencias de su estructura cuaternaria.

20. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
    A. La red de transmisión de carga de la tripsina hace del sitio activo de la serina un nucleófilo fuerte.
    B. La constante de Michaelis es la concentración de sustrato a la cual la tasa de la reacción es la mitad del máximo.
    C. Durante reacciones de transaminación, ambos sustratos están unidos a la enzima antes de que uno u otro producto se libere.
    D. Los residuos de histidina actúan como ácidos y como bases durante la catálisis por una aspartato proteasa.
    E. Muchas coenzimas y cofactores se derivan de vitaminas.

21. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
    A. Las enzimas interconvertibles desempeñan papeles clave en redes reguladoras integradas.
    B. La fosforilación de una enzima a menudo altera su eficiencia catalítica.
    C. Los “segundos mensajeros” actúan como extensiones o sustitutivos intracelulares para hormonas e impulsos nerviosos que actúan sobre receptores de superficie celular.
    D. La capacidad de las proteína cinasas para catalizar la reacción inversa que elimina el grupo fosfato es clave para la versatilidad de este mecanismo regulador molecular.
    E. La activación de zimógeno mediante proteólisis parcial es irreversible en condiciones fisiológicas.

22. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
    A. La *HapMap Database* se enfoca en la ubicación y la identidad de polimorfismos de nucleótido único en seres humanos.
    B. *Genbank* es un depósito de datos sobre los resultados fenotípicos de deleciones (*knockouts*) de gen en seres humanos.
    C. La *Protein Database* o PDB almacena las estructuras tridimensionales de proteínas según se determina mediante cristalografía de rayos X o espectroscopia por resonancia magnética nuclear (NMR).
    D. El objetivo del proyecto ENCODE es identificar todos los elementos funcionales del genoma.
    E. BLAST compara secuencias de proteína y nucleótidos a fin de identificar áreas de similitud.

23. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
    A. Un obstáculo importante para el diseño de fármacos auxiliado por computadora son las demandas extraordinarias de capacidad de cálculo requeridas para permitir que las proteínas y los ligandos tengan un grado realista de flexibilidad conformacional.
    B. La flexibilidad conformacional se necesita para permitir que el ligando y la proteína influyan uno sobre el otro como se describe mediante el modelo de cerradura y llave de Fischer para la unión entre proteína y ligando.
    C. La construcción de una célula virtual proporcionaría un medio para detectar con rapidez y eficiencia muchos efectos indeseables de fármacos potenciales sin la necesidad de pruebas de laboratorio caras.
    D. La biología de sistemas pone de relieve la manera en la cual las conexiones entre unidades enzimáticas o unidades de otros tipos en una célula afectan su desempeño.
    E. Los biólogos de sistemas a menudo emplean la lógica simbólica de programas de computadora y circuitos electrónicos para describir las interacciones entre proteínas, genes y metabolitos.

24. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA:
    A. Las representaciones GRASP ponen de relieve áreas de la superficie de una proteína que poseen carácter positivo o negativo local.
    B. Las simulaciones de dinámica molecular buscan reconstruir los tipos de movimiento y el rango de este último por los cuales pasan las proteínas flexibles desde el punto de vista conformacional.
    C. Los investigadores usan programas de esfera giratoria para localizar indentaciones y hendiduras sobre la superficie de una proteína, porque éstas representan sitios probables para el ataque por proteasas.
    D. Las simulaciones de acoplamiento molecular a menudo restringen la rotación libre a sólo un pequeño grupo de enlaces en un ligando para hacer que coincidan con el poder de cálculo disponible.
    E. Discernir las relaciones evolutivas entre proteínas constituye uno de los medios más eficaces de predecir las funciones probables de un polipéptido recién descubierto.

SECCIÓN II

Bioenergética y el metabolismo de carbohidratos y lípidos

CAPÍTULO 11

Bioenergética: la función del ATP

Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Enunciar la primera y segunda leyes de la termodinámica, y entender cómo se aplican a sistemas biológicos.
- Explicar qué significan los términos energía libre, entropía, entalpía, exergónico y endergónico.
- Apreciar cómo las reacciones que son endergónicas pueden ser impulsadas por acoplamiento a las que son exergónicas en sistemas biológicos.
- Entender el papel de fosfatos de alta energía, ATP y otros nucleótido trifosfatos en la transferencia de energía libre desde procesos exergónicos hacia endergónicos, lo que les permite actuar como la "moneda de energía" de las células.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La bioenergética, o termodinámica bioquímica, es el estudio de los cambios de energía que acompañan a reacciones bioquímicas. Los sistemas biológicos son, en esencia, **isotérmicos**, y usan energía química para impulsar procesos vivos. El modo en que un animal obtiene combustible idóneo a partir de sus alimentos para proporcionar esta energía es básico para el entendimiento de la nutrición y el metabolismo normales. La muerte por **inanición** ocurre cuando se agotan las reservas de energía disponibles, y ciertas formas de malnutrición se relacionan con desequilibrio de energía (**marasmo**). Las hormonas tiroideas controlan el índice de liberación de energía (índice metabólico) y sobreviene enfermedad cuando funcionan mal. El almacenamiento excesivo de energía excedente causa **obesidad**, misma que es cada vez más común en la sociedad occidental, padecimiento que predispone a muchas enfermedades, como enfermedad cardiovascular y diabetes mellitus tipo 2, además de que disminuye la esperanza de vida del individuo.

LA ENERGÍA LIBRE ES LA ENERGÍA ÚTIL EN UN SISTEMA

El cambio de energía libre de Gibbs (ΔG) es la porción del cambio de energía total en un sistema que está disponible para desempeñar trabajo, es decir, la energía útil, también conocida como el potencial químico.

Los sistemas biológicos se conforman a las leyes generales de la termodinámica

La primera ley de la termodinámica establece que **la energía total de un sistema, incluso sus alrededores, permanece constante**. Eso implica que dentro del sistema total, la energía no se pierde ni se gana durante cambio alguno; sin embargo, sí se puede transferir de una porción del sistema a otra, o transformarse en otra forma de energía. En sistemas vivos, la energía

química se transforma en calor o en energías eléctrica, radiante o mecánica.

La segunda ley de la termodinámica establece que **para que un proceso ocurra de manera espontánea, es necesario que la entropía total de un sistema aumente**. La **entropía** es la extensión de trastorno o de aleatoriedad del sistema y alcanza su punto máximo conforme logra el equilibrio. En condiciones de temperatura y presión constantes, el vínculo entre el cambio de energía libre (ΔG) de un sistema que está reaccionando y el cambio de entropía (ΔS) se expresa por medio de la ecuación que sigue, que combina las dos leyes de la termodinámica:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

donde ΔH es el cambio de la **entalpía** (calor) y T es la temperatura absoluta.

En reacciones bioquímicas, dado que ΔH es aproximadamente igual a ΔE, el cambio total de energía interna de la reacción, la relación anterior puede expresarse como sigue:

$$\Delta G = \Delta E - T\Delta S$$

Si ΔG es negativa, la reacción procede de modo espontáneo con pérdida de la energía libre; esto es, es **exergónica**. Si, además, ΔG es de gran magnitud, la reacción avanza casi hasta completarse y es, en esencia, irreversible. Por otra parte, si ΔG es positiva, la reacción sólo procede si es factible ganar energía libre; de modo que es **endergónica**. Si, además, ΔG es de gran magnitud, el sistema es estable, con poca o ninguna tendencia a que ocurra una reacción. Si ΔG es de cero, el sistema está en equilibrio y no tiene lugar un cambio neto.

Cuando los reactivos están presentes en concentraciones de 1.0 mol/L, ΔG^0 es el cambio de energía libre estándar. Para reacciones bioquímicas, un estado estándar es definido como tener un pH de 7.0. El cambio de energía libre estándar a tal estado estándar es indicado por $\Delta G^{0'}$.

El cambio de energía libre estándar puede calcularse a partir de la constante de equilibrio K_{eq}.

$$\Delta G^{0'} = -RT \ln K'_{eq}$$

donde R es la constante gaseosa y T es la temperatura absoluta (cap. 8). Es importante notar que la ΔG real puede ser mayor o menor que $\Delta G^{0'}$, según las concentraciones de los diversos reactivos, incluso el solvente, diversos iones y proteínas.

En un sistema bioquímico, una enzima sólo acelera el logro del equilibrio; nunca altera las concentraciones finales de los reactivos en equilibrio.

LOS PROCESOS ENDERGÓNICOS PROCEDEN POR MEDIO DE ACOPLAMIENTO A PROCESOS EXERGÓNICOS

Los procesos vitales —p. ej., reacciones sintéticas, contracción muscular, conducción de impulsos nerviosos, transporte activo— obtienen energía mediante enlace químico, o **acoplamiento**, a reacciones oxidativas. En su forma más simple, este tipo de acoplamiento puede representarse como lo muestra la **figura 11-1**. La conversión del metabolito A en metabolito B ocurre con liberación de energía libre y está acoplada a otra reacción en la cual se requiere energía libre para convertir el metabolito C en el metabolito D. Los términos **exergónico** y **endergónico**, en lugar de los términos químicos normales "exotérmico" y "endotérmico", indican que un proceso está acompañado de pérdida o ganancia, respectivamente, de energía libre en cualquier forma, no siempre como calor. En la práctica, un proceso endergónico no puede existir de manera independiente, sino que debe ser un componente de un sistema exergónico-endergónico acoplado donde el cambio neto general es exergónico. Las reacciones exergónicas reciben el nombre de **catabolismo** (en general, la desintegración u oxidación de moléculas de combustible), en tanto que las reacciones sintéticas que acumulan sustancias se llaman **anabolismo**; los procesos catabólico y anabólico combinados constituyen el **metabolismo**.

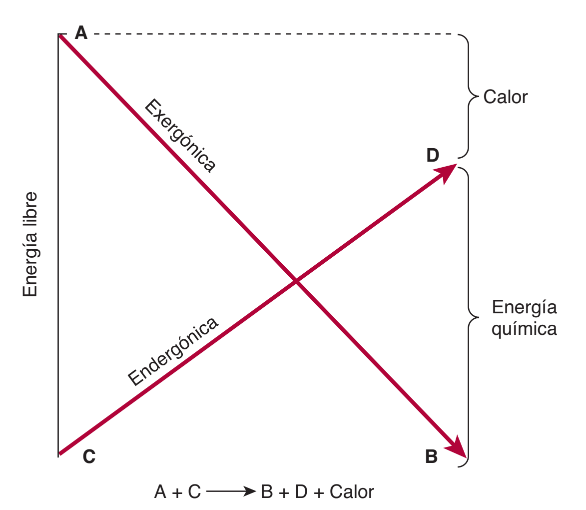


FIGURA 11–1 **Acoplamiento de una reacción exergónica a una endergónica.**

Si la reacción que se muestra en la figura 11-1 va de izquierda a derecha, el proceso general debe acompañarse de pérdida de energía libre como calor. Un mecanismo posible de acoplamiento podría imaginarse si un intermediario (I) obligatorio común tomó parte en ambas reacciones, esto es,

$$A + C \rightarrow I \rightarrow B + D$$

Algunas reacciones exergónicas y endergónicas en sistemas biológicos están acopladas de este modo. Este tipo de sistema tiene un mecanismo integrado para el control biológico del índice de procesos oxidativos, puesto que el intermediario obligatorio común permite que el índice de utilización del producto de la vía sintética (D) determine mediante acción de masa el índice al cual se oxida A. En realidad, estos vínculos proporcionan una base para el concepto de **control respiratorio**, el proceso que evita que un organismo se consuma fuera de control. Las reacciones de deshidrogenación, que están acopladas a hidrogenaciones por medio de un acarreador intermedio (**figura 11-2**), proporcionan una extensión del concepto de acoplamiento.

Un método alternativo de acoplar un proceso exergónico a uno endergónico es sintetizar un compuesto de alta energía potencial en la reacción exergónica, e incorporar este nuevo compuesto

FIGURA 11–2 Acoplamiento de reacciones de deshidrogenación e hidrogenación por un transportador intermedio.

hacia la reacción endergónica, lo que efectúa una transferencia de energía libre desde la vía exergónica hacia la endergónica (**figura 11-3**). La ventaja biológica de este mecanismo es que el compuesto de energía potencial alta, ~Ⓔ, al contrario de I en el sistema previo, no necesita estar relacionado de modo estructural con A, B, C o D, lo que permite que Ⓔ sirva como un transductor de energía desde una amplia gama de reacciones exergónicas hacia una gama igual de amplia de reacciones o procesos endergónicos, como biosíntesis, contracción muscular, excitación nerviosa y transporte activo. En la célula viva, el principal intermediario de alta energía o compuesto acarreador (designado ~Ⓔ en la figura 11-3), es el **trifosfato de adenosina (ATP)** (**figura 11-4**).

LOS FOSFATOS DE ALTA ENERGÍA TIENEN UNA FUNCIÓN FUNDAMENTAL EN LA CAPTACIÓN Y LA TRANSFERENCIA DE ENERGÍA

A fin de mantener procesos vivos, todos los organismos deben obtener energía libre desde su ambiente. Los organismos **autotróficos** utilizan procesos exergónicos simples; por ejemplo, la energía de la luz solar (plantas verdes), la reacción $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (algunas bacterias). Por otra parte, los organismos **heterotróficos** obtienen energía libre al acoplar su metabolismo a la desintegración de moléculas orgánicas complejas en su ambiente. En todos estos organismos, el ATP tiene una función fundamental en la transferencia de energía libre desde los procesos exergónicos hacia los endergónicos (figura 11-3). El ATP es un nucleósido trifosfato que contiene adenina, ribosa y tres grupos fosfato. En sus reacciones en la célula, funciona como el complejo de Mg^{2+} (figura 11-4).

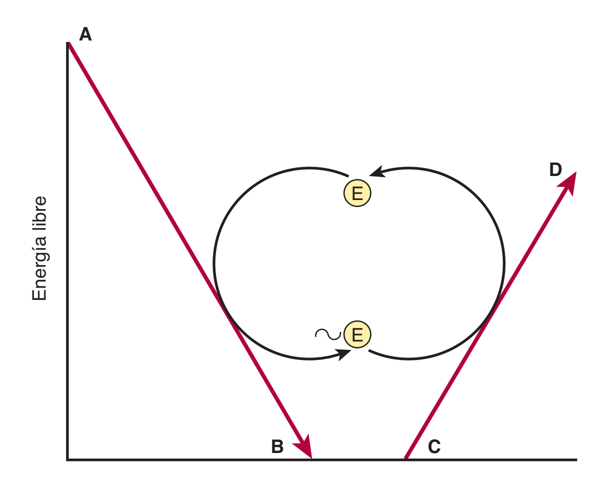


FIGURA 11–3 Transferencia de energía libre desde una reacción exergónica hacia una endergónica mediante un compuesto intermedio de alta energía (~Ⓔ).

FIGURA 11–4 El trifosfato de adenosina (ATP) y el difosfato de adenosina mostrados como complejos de magnesio.

La importancia de los fosfatos en el metabolismo intermediario se hizo evidente con el descubrimiento de la función del ATP, difosfato de adenosina (ADP) (figura 11-4) y fosfato inorgánico (P_i) en la glucólisis (cap. 18).

El valor intermedio para la energía libre de hidrólisis del ATP tiene gran importancia bioenergética

El **cuadro 11-1** muestra la energía libre estándar de la hidrólisis de diversos fosfatos importantes desde el punto de vista bioquímico. Un estimado de la tendencia comparativa de cada uno de los grupos fosfato para transferir hacia un aceptor idóneo puede obtenerse a partir de la $\Delta G^{0'}$ de la hidrólisis a 37°C. El valor para la hidrólisis del fosfato terminal del ATP divide la lista en dos grupos. Los **fosfatos de baja energía**, ejemplificados por los fosfatos éster que se encuentran en los intermediarios de la glucólisis, tienen valores de $G^{0'}$ menores que los del ATP, mientras que en los **fosfatos de alta energía** el valor es mayor que el del ATP. Los componentes de este último grupo, incluso el ATP, por lo general son anhídridos (p. ej., el 1-fosfato del 1,3-bisfosfoglicerato), enolfosfatos (p. ej., fosfoenolpiruvato) y fosfoguanidinas (p. ej., creatina fosfato, arginina fosfato).

CUADRO 11–1 Energía libre estándar de hidrólisis de algunos organofosfatos de importancia bioquímica

	$\Delta G^{0\prime}$	
Compuesto	**kJ/mol**	**kcal/mol**
Fosfoenolpiruvato	−61.9	−14.8
Carbamoil fosfato	−51.4	−12.3
1,3-bisfosfoglicerato (a 3-fosfoglicerato)	−49.3	−11.8
Creatina fosfato	−43.1	−10.3
ATP → AMP + PP_i	−32.2	−7.7
ATP → ADP + P_i	−30.5	−7.3
Glucosa 1-fosfato	−20.9	−5.0
PP_i	−19.2	−4.6
Fructosa 6-fosfato	−15.9	−3.8
Glucosa 6-fosfato	−13.8	−3.3
Glicerol 3-fosfato	−9.2	−2.2

Abreviaturas: PP_i, pirofosfato; P_i, ortofosfato inorgánico.
Nota: Todos los valores tomados de Jencks (1976), excepto los valores para el PP_i, que son de Frey y Arabshahi (1995). Los valores difieren entre investigadores, según las condiciones precisas en las cuales se hicieron las mediciones.

El símbolo ~Ⓟ indica que el grupo fijo al enlace, en el momento de transferencia hacia un aceptor apropiado, da por resultado la transferencia de la cantidad más grande de energía libre. Por este motivo, algunos prefieren el término **potencial de transferencia de grupo**, más que "enlace de alta energía". De esta manera, el ATP contiene dos grupos fosfato de alta energía y el ADP contiene uno, mientras que el fosfato en el AMP (monofosfato de adenosina) es del tipo de baja energía, porque es un enlace éster normal (**figura 11-5**).

La posición intermedia del ATP permite que desempeñe una función importante en la transferencia de energía. El cambio de energía libre en el momento de la hidrólisis del ATP se debe a alivio de la repulsión de carga de átomos de oxígeno adyacentes que tienen carga negativa, y a estabilización de los productos de la reacción, en especial fosfato, como híbridos de resonancia (**figura 11-6**). Otros "compuestos de alta energía" son ésteres tiol que incluyen a la coenzima A (p. ej., acetil-CoA), proteína transportadora de grupos acilo, y ésteres aminoácidos comprendidos en la síntesis de proteína, *S*-adenosilmetionina (metionina activa), UDPGlc (uridina difosfato glucosa) y PRPP (5-fosforribosil-1-pirofosfato).

LOS FOSFATOS DE ALTA ENERGÍA ACTÚAN COMO LA "MONEDA DE ENERGÍA" DE LA CÉLULA

El ATP puede actuar como un donador de fosfato de alta energía para formar los compuestos que están por debajo del mismo en el cuadro 11-1. De igual modo, con las enzimas necesarias, el ADP puede aceptar fosfato de alta energía para formar ATP a partir de los compuestos que se hallan por arriba del ATP en el cuadro. En efecto, un **ciclo de ATP/ADP** conecta los procesos que generan ~Ⓟ con los procesos que lo utilizan (**figura 11-7**), lo que consume y regenera ATP de manera continua. Esto sobreviene a un índice muy rápido, dado que el fondo común total

Adenosina — O — P(O⁻)(=O) — O ~ P(O⁻)(=O) — O ~ P(O⁻)(=O) — O⁻

o Adenosina — Ⓟ ~ Ⓟ ~ Ⓟ

Trifosfato de adenosina (ATP)

Adenosina — O — P(O⁻)(=O) — O ~ P(O⁻)(=O) — O⁻

o Adenosina — Ⓟ ~ Ⓟ

Difosfato de adenosina (ADP)

Adenosina — O — P(O⁻)(=O) — O⁻

o Adenosina — Ⓟ

Monofosfato de adenosina (AMP)

FIGURA 11–5 Estructura del ATP, ADP y AMP, que muestra la posición y el número de fosfatos de alta energía (~Ⓟ).

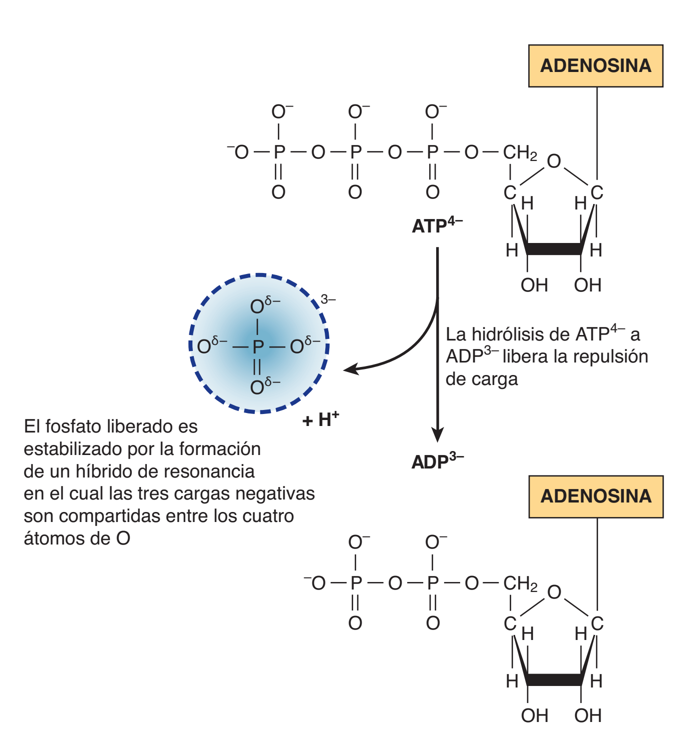


FIGURA 11–6 Cambio de energía libre en la hidrólisis de ATP a ADP.

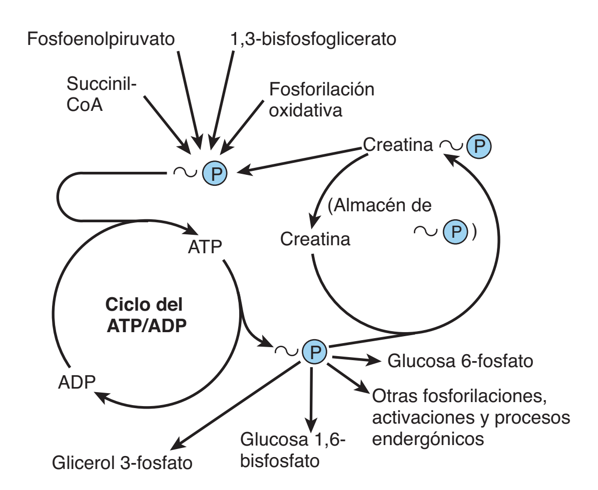


FIGURA 11–7 **Papel del ciclo del ATP/ADP en la transferencia de fosfato.**

de ATP/ADP es en extremo pequeño, y suficiente para mantener un tejido activo sólo algunos segundos.

Hay tres fuentes principales de ~Ⓟ que participan en la **conservación de energía** o **captación de energía:**

1. **Fosforilación oxidativa:** la mayor fuente cuantitativa de ~Ⓟ en organismos aerobios. La energía libre proviene de la oxidación de la cadena respiratoria usando O_2 molecular dentro de las mitocondrias (cap. 12).
2. **Glucólisis:** una formación neta de dos ~Ⓟ depende de la formación de lactato a partir de una molécula de glucosa, generada en dos reacciones catalizadas por fosfoglicerato cinasa y piruvato cinasa, respectivamente (figura 18-2).
3. **El ciclo del ácido cítrico:** se genera un ~Ⓟ de modo directo en el ciclo en el paso de la succinato tiocinasa (figura 17-3).

Los **fosfágenos** actúan como formas de almacenamiento de fosfato de alta energía, e incluyen creatina fosfato, que se encuentra en el músculo estriado, el corazón, los espermatozoides y el cerebro de vertebrados, y arginina fosfato, que existe en el músculo de invertebrados. Cuando se está utilizando con rapidez ATP como una fuente de energía para la contracción muscular, los fosfágenos permiten que sus concentraciones se mantengan, pero cuando la proporción ATP/ADP es alta, su concentración puede incrementarse para actuar como una reserva de fosfato de alta energía (**figura 11-8**).

Cuando el ATP actúa como un donador de fosfato para formar los compuestos de energía libre más baja de hidrólisis (cuadro 11-1), el grupo fosfato siempre se convierte en uno de baja energía, por ejemplo,

$$\text{Glicerol} + \text{Adenosina}-Ⓟ\sim Ⓟ\sim Ⓟ \xrightarrow{\text{GLICEROL CINASA}} \text{Glicerol}-Ⓟ + \text{Adenosina}-Ⓟ\sim Ⓟ$$

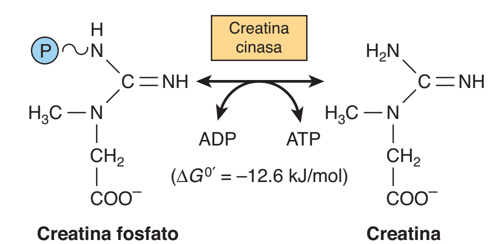


FIGURA 11–8 **Transferencia de fosfato de alta energía entre ATP y creatina.**

El ATP permite el acoplamiento de reacciones desfavorables en el aspecto termodinámico, a favorables

La fosforilación de glucosa hacia glucosa-6-fosfato, la primera reacción de la glucólisis (fig. 18-2), es muy endergónica y no puede proceder en condiciones fisiológicas.

$$\text{Glucosa} + P_i \rightarrow \text{Glucosa 6-fosfato} + H_2O \quad (1)$$

$$(\Delta G^{0'} = +13.8 \text{ kJ/mol})$$

Para que tenga lugar, la reacción debe acoplarse con otra reacción —más exergónica—, como la hidrólisis del fosfato terminal del ATP.

$$\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + P_i \; (\Delta G^{0'} = -30.5 \text{ kJ/mol}) \quad (2)$$

Cuando (1) y (2) se acoplan en una reacción catalizada por hexocinasa, la fosforilación de la glucosa procede con facilidad en una reacción muy exergónica que en condiciones fisiológicas es irreversible. Muchas reacciones de "activación" siguen este modelo.

La adenilil cinasa (miocinasa) interconvierte nucleótidos adenina

Dicha enzima está presente en casi todas las células. Cataliza la siguiente reacción:

$$\text{ATP} + \text{AMP} \xleftrightarrow{\text{ADENILIL CINASA}} 2\text{ADP}$$

Esto permite que:

1. El fosfato de alta energía en el ADP se use en la síntesis de ATP.
2. El AMP, formado como consecuencia de varias reacciones de activación que comprenden ATP, se recupere mediante refosforilación hacia ADP.
3. Aumente la concentración de AMP cuando el ATP se agota y actúa como una señal metabólica (alostérica) para incrementar el índice de reacciones catabólicas, que a su vez llevan a la generación de más ATP (cap. 20).

Cuando el ATP forma AMP, se produce pirofosfato inorgánico (PP_i)

El ATP también puede hidrolizarse de manera directa hacia AMP, con la liberación de PP_i (cuadro 11-1). Esto sucede, por ejemplo, en la activación de ácidos grasos de cadena larga (cap. 22).

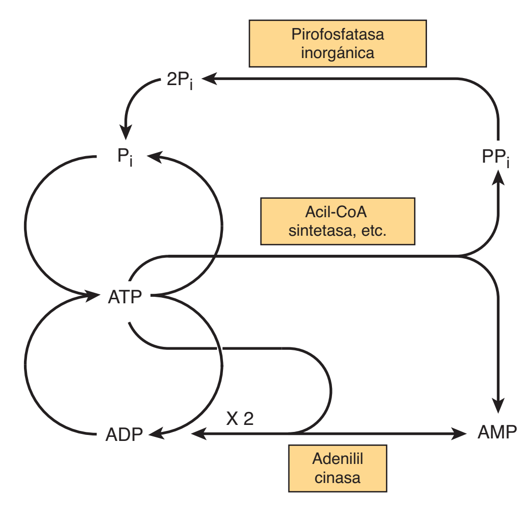


FIGURA 11–9 Ciclos del fosfato e intercambio de nucleótidos adenina.

$$\text{ATP} + \text{CoA}\cdot\text{SH} + \text{R}\cdot\text{COOH} \xrightarrow{\text{ACIL-CoA SINTETASA}} \text{AMP} + \text{PP}_i + \text{R}\cdot\text{CO}-\text{SCoA}$$

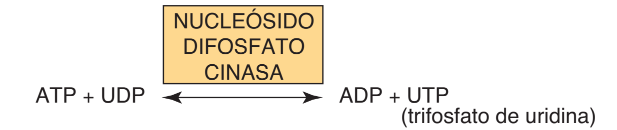
Esta reacción se acompaña de pérdida de energía libre como calor, lo que asegura que la reacción de activación irá hacia la derecha, y se auxilia más por la división hidrolítica del PP_i, catalizada por **pirofosfatasa inorgánica**, una reacción que en sí tiene una $\Delta G^{0'}$ grande, de −19.2 kJ/mol. Note que las activaciones por medio de la vía del pirofosfato dan por resultado la pérdida de dos ~Ⓟ más que de uno, como ocurre cuando se forman ADP y P_i.

$$\text{PP}_i + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{FOSFATASA INORGÁNICA}} 2\text{P}_i$$

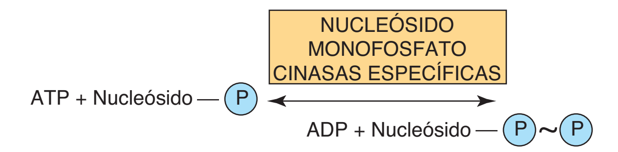
Una combinación de las reacciones anteriores hace posible que el fosfato se recicle y que los nucleótidos adenina se intercambien (**figura 11-9**).

Otros nucleósidos trifosfato participan en la transferencia de fosfato de alta energía

Mediante la enzima **nucleósido difosfato cinasa** pueden sintetizarse UTP, GTP y CTP a partir de sus difosfatos, por ejemplo, UDP reacciona con ATP para formar UTP.



Todos estos trifosfatos participan en fosforilaciones en la célula. De modo similar, nucleósido monofosfato cinasas específicas catalizan la formación de nucleósido difosfatos a partir de los monofosfatos correspondientes.



De esta manera, la adenilil cinasa es una monofosfato cinasa especializada.

RESUMEN

- En los sistemas biológicos se utiliza energía química para impulsar procesos vivos.
- Las reacciones exergónicas tienen lugar de modo espontáneo, con pérdida de energía libre (ΔG es negativa). Las reacciones endergónicas requieren la ganancia de energía libre (ΔG es positiva) y sólo ocurren cuando se acoplan a reacciones exergónicas.
- El ATP actúa como la "moneda de energía" de la célula, al transferir energía libre derivada de sustancias de potencial de energía superior hacia las de potencial de energía inferior.

REFERENCIAS

de Meis L: The concept of energy-rich phosphate compounds: water, transport ATPases, and entropy energy. Arch Biochem Biophys 1993;306:287.

Frey PA, Arabshahi A: Standard free-energy change for the hydrolysis of the alpha, beta-phosphoanhydride bridge in ATP. Biochemistry 1995;34:11307.

Harold FM: *The Vital Force: A Study of Bioenergetics.* Freeman, 1986.

Harris DA: *Bioenergetics at a Glance: An Illustrated Introduction.* Blackwell Publishing, 1995.

Haynie D: *Biological Thermodynamics.* Cambridge University Press, 2008.

Jencks WP: Free energies of hydrolysis and decarboxylation. In: *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology,* vol 1. *Physical and Chemical Data.* Fasman GD (editor). CRC Press, 1976:296–304.

Klotz IM: *Introduction to Biomolecular Energetics.* Academic Press, 1986.

Nicholls D, Ferguson F: *Bioenergetics.* Elsevier, 2003.

CAPÍTULO

12

Oxidación biológica

Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Entender el significado del potencial de óxido-reducción (redox), y explicar cómo puede usarse para predecir la dirección del flujo de electrones en sistemas biológicos.
- Identificar las cuatro clases de enzimas (oxidorreductasas) involucradas en reacciones de oxidación y reducción.
- Describir la acción de oxidasas y proporcionar ejemplos de dónde desempeñan un papel importante en el metabolismo.
- Indicar las dos funciones principales de las deshidrogenasas y explicar la importancia de deshidrogenasas enlazadas a NAD y a riboflavina en vías metabólicas como la glucólisis, el ciclo del ácido cítrico, y la cadena respiratoria.
- Identificar los dos tipos de enzimas clasificadas como hidroperoxidasas; indicar las reacciones que catalizan y explicar por qué son importantes.
- Dar los dos pasos de reacciones catalizadas por oxigenasas, e identificar los dos subgrupos de esta clase de enzimas.
- Apreciar el papel del citocromo P-450 en la detoxificación de fármacos y la síntesis de esteroides.
- Describir la reacción catalizada por la superóxido dismutasa, y explicar cómo protege tejidos contra toxicidad por oxígeno.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Desde el punto de vista químico, la **oxidación** se define como la pérdida de electrones, en tanto que la **reducción** es la ganancia de electrones. De este modo, la oxidación siempre se acompaña de reducción de un aceptor de electrones. Este principio de oxidación-reducción aplica por igual a sistemas bioquímicos y es un concepto importante que fundamenta el entendimiento de la naturaleza de la oxidación biológica. Note que muchas oxidaciones biológicas pueden tener lugar sin la participación de oxígeno molecular, p. ej., deshidrogenaciones. La vida de animales superiores depende por completo de un aporte de oxígeno para la **respiración**, el proceso por medio del cual las células obtienen energía en forma de ATP a partir de la reacción controlada de hidrógeno con oxígeno para formar agua. Además, el oxígeno molecular se incorpora a los diversos sustratos mediante enzimas llamadas **oxigenasas**; muchos fármacos, contaminantes y carcinógenos químicos (xenobióticos) son metabolizados por enzimas de esta clase, conocidas como el **sistema de citocromo P450**. La administración de oxígeno puede salvar la vida en el tratamiento de pacientes con insuficiencia respiratoria o circulatoria.

LOS CAMBIOS DE ENERGÍA LIBRE PUEDEN EXPRESARSE EN TÉRMINOS DE POTENCIAL REDOX

En reacciones que conllevan oxidación y reducción, el cambio de energía libre es proporcional a la tendencia de los reactivos a donar electrones o aceptarlos. De esta manera, además de expresar cambio de energía libre en cuanto a $\Delta G^{0'}$ (cap. 11), es posible, de un modo análogo, expresarlo de manera numérica como un **potencial de oxidación-reducción** o **redox** (E'_0). El potencial redox de un sistema (E_0) por lo general se compara con el potencial del electrodo de hidrógeno (0.0 voltios a pH de 0.0). Sin embargo, para sistemas biológicos, el potencial redox (E'_0) por lo general se expresa a pH de 7.0, pH al cual el potencial de electrodo de hidrógeno es de −0.42 V. El **cuadro 12-1** muestra los potenciales redox de algunos sistemas redox de interés especial en bioquímica de mamíferos. Las posiciones relativas de los sistemas redox en el cuadro permiten predecir la dirección de flujo de electrones desde una pareja redox hacia otra.

CUADRO 12–1 Algunos potenciales redox de interés especial en sistemas de oxidación de mamíferos

Sistema	E'_0 Voltios
H^+/H_2	−0.42
NAD^+/NADH	−0.32
Lipoato; ox/red	−0.29
Acetoacetato/3-hidroxibutirato	−0.27
Piruvato/lactato	−0.19
Oxaloacetato/malato	−0.17
Fumarato/succinato	+0.03
Citocromo *b*; Fe^{3+}/Fe^{2+}	+0.08
Ubiquinona; ox/red	+0.10
Citocromo c_1; Fe^{3+}/Fe^{2+}	+0.22
Citocromo *a*; Fe^{3+}/Fe^{2+}	+0.29
Oxígeno/agua	+0.82

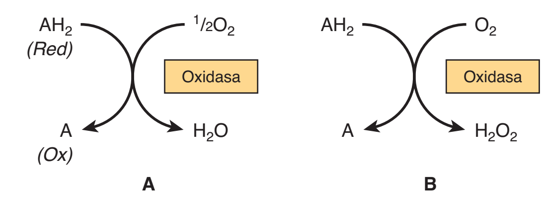


FIGURA 12–1 Oxidación de un metabolito catalizada por una oxidasa (A) formando H_2O, (B) formando H_2O_2.

Las enzimas comprendidas en oxidación y reducción reciben el nombre de **oxidorreductasas** y se clasifican en cuatro grupos: **oxidasas**, **deshidrogenasas**, **hidroperoxidasas** y **oxigenasas**.

LAS OXIDASAS USAN OXÍGENO COMO UN ACEPTOR DE HIDRÓGENO

Las oxidasas catalizan la eliminación de hidrógeno desde un sustrato usando oxígeno como un aceptor de hidrógeno.* Forman agua o peróxido de hidrógeno como un producto de reacción (**figura 12-1**).

Algunas oxidasas contienen cobre

La **citocromo oxidasa** es una hemoproteína ampliamente distribuida en muchos tejidos, que tiene el grupo prostético hem típico presente en la mioglobina, hemoglobina y otros citocromos (cap. 6). Es el componente terminal de la cadena de acarreadores respiratorios encontrados en mitocondrias (cap. 13) y transfiere electrones originados por la oxidación de moléculas de sustrato por deshidrogenasas hacia su aceptor final, oxígeno. La acción de la enzima es bloqueada por monóxido de carbono, cianuro y sulfuro de hidrógeno y ello causa envenenamiento al prevenir la respiración celular. También se ha denominado "citocromo a_3". Empero, ahora se sabe que el hem a_3 se combina con otro hem, el hem *a*, en una proteína única para formar el complejo enzimático citocromo oxidasa y, así, es más correcto llamarlo **citocromo aa_3**. Contiene dos moléculas de hem, cada una de las cuales tiene un átomo de Fe que oscila entre Fe^{3+} y Fe^{2+} durante oxidación y reducción. Más aún, hay dos átomos de Cu, cada uno relacionado con una unidad hem.

*El término "oxidasa" a veces se usa de modo colectivo para denotar todas las enzimas que catalizan reacciones que comprenden oxígeno molecular.

Otras oxidasas son flavoproteínas

Las enzimas flavoproteína contienen **flavina mononucleótido (FMN)** o **flavina adenina dinucleótido (FAD)** como grupos prostéticos. FMN y FAD se forman en el cuerpo a partir de la vitamina **riboflavina** (cap. 44); por lo regular están unidos de modo estrecho —aunque no covalente— a sus proteínas apoenzima respectivas. Las metaloflavoproteínas contienen uno o más metales como cofactores esenciales. Los ejemplos de enzimas flavoproteína son: **L-aminoácido oxidasa**, enzima enlazada a FMN que se encuentra en los riñones con especificidad general por la desaminación oxidativa de los L-aminoácidos que existen de manera natural; **xantina oxidasa**, que contiene molibdeno, es importante en la conversión de bases purina en ácido úrico (cap. 33) y tiene una particular importancia en animales uricotélicos (cap. 28), y **aldehído deshidrogenasa**, enzima enlazada a FAD presente en hígados de mamíferos, que contiene molibdeno y hierro no hem, y actúa sobre aldehídos y sustratos *N*-heterocíclicos. Los mecanismos de oxidación y reducción de estas enzimas son complejos. La evidencia sugiere una reacción de dos pasos (**figura 12-2**).

LAS DESHIDROGENASAS NO PUEDEN USAR OXÍGENO COMO ACEPTOR DE HIDRÓGENO

Esta clase incluye un gran número de enzimas. Desempeñan dos funciones principales:

1. Transferencia de hidrógeno desde un sustrato hacia otro en una reacción de oxidación-reducción acoplada (**figura 12-3**). Tales deshidrogenasas son específicas para sus sustratos, pero suelen emplear coenzimas o acarreadores de hidrógeno comunes, p. ej., NAD^+. Dado que las reacciones son reversibles, estas propiedades permiten que los equivalentes reductores se transfieran de manera libre dentro de la célula. Este tipo de reacción, la cual permite que un sustrato se oxide a expensas de otro, es de particular utilidad para permitir que ocurran procesos oxidativos en ausencia de oxígeno, como durante la fase anaeróbica de la glucólisis (figura 18-2).

2. Transferencia de electrones en la **cadena respiratoria** del transporte de electrones desde sustrato hacia oxígeno (figura 13-3).

FIGURA 12–2 **Oxidorreducción del anillo isoaloxazina en nucleótidos de flavina por medio de un intermediario semiquinona (radical libre) (centro).**

Muchas deshidrogenasas dependen de coenzimas nicotinamida

Estas deshidrogenasas usan **nicotinamida adenina dinucleótido (NAD^+)** o **nicotinamida adenina dinucleótido fosfato ($NADP^+$)** —o ambas— que se forman en el cuerpo a partir de la vitamina **niacina** (cap. 44). Las coenzimas son reducidas por el sustrato específico de la deshidrogenasa, y reoxidadas por un aceptor de electrones idóneo (**figura 12-4**). Pueden disociarse de manera libre y reversible desde sus apoenzimas respectivas.

En general, las **deshidrogenasas ligadas a NAD** catalizan reacciones de oxidorreducción en las vías oxidativas del metabolismo, sobre todo en la glucólisis (cap. 18), en el ciclo del ácido cítrico (cap. 17), y en la cadena respiratoria de mitocondrias (cap. 13). Las deshidrogenasas enlazadas a NADP se encuentran de modo característico en síntesis reductivas, como en la vía extramitocondrial de la síntesis de ácido graso (cap. 23) y la síntesis de esteroides (cap. 26), y en la vía de la pentosa fosfato (cap. 21).

Otras deshidrogenasas dependen de la riboflavina

Los **grupos flavina** vinculados con estas deshidrogenasas son similares a la FMN y FAD que ocurren en oxidasas. Por lo general están más estrechamente unidos a sus apoenzimas que las coenzimas nicotinamida. Casi todas las **deshidrogenasas enlazadas con riboflavina** están relacionadas con el transporte de electrones en (o para) la cadena respiratoria (cap. 13). La **NADH deshidrogenasa** actúa como acarreador de electrones entre la NADH y los componentes de potencial redox más alto (fig. 13-3). Otras deshidrogenasas, como la **succinato deshidrogenasa, acil-CoA deshidrogenasa** y **glicerol-3-fosfato deshidrogenasa mitocondrial**, transfieren equivalentes reductores de manera directa desde el sustrato hacia la cadena respiratoria (fig. 13-5). Otra función de las deshidrogenasas dependientes de flavina estriba en la deshidrogenación (por medio de la **dihidrolipoil deshidrogenasa**) de lipoato reducido, intermediario en la descarboxilación oxidativa de piruvato y α-cetoglutarato (figuras 13-5 y 18-5). La **flavoproteína transferidora de electrones (ETF)** es un acarreador intermediario de electrones entre la acil-CoA deshidrogenasa y la cadena respiratoria (figura 13-5).

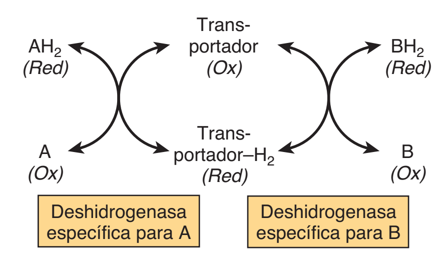


FIGURA 12–3 **Oxidación de un metabolito catalizada por deshidrogenasas acopladas.**

Los citocromos también pueden considerarse deshidrogenasas

Los **citocromos** son hemoproteínas que contienen hierro en las cuales el átomo de hierro oscila entre Fe^{3+} y Fe^{2+} durante la oxidación y reducción. Excepto por la citocromo oxidasa (ya descrita), se clasifican como deshidrogenasas. En la cadena respiratoria, participan como acarreadores de electrones desde flavoproteínas por un lado hacia citocromo oxidasa por el otro (figura 13-5). Varios citocromos identificables se encuentran en la cadena respiratoria, citocromos *b*, c_1, *c*, y citocromo oxidasa. Los citocromos también se encuentran en otras ubicaciones, por ejemplo, el retículo endoplásmico (citocromos P450 y b_5), y en células vegetales, bacterias y levaduras.

LAS HIDROPEROXIDASAS USAN PERÓXIDO DE HIDRÓGENO O UN PERÓXIDO ORGÁNICO COMO SUSTRATO

Dos tipos de enzimas que se encuentran tanto en animales como en vegetales caen dentro de esta categoría: **peroxidasas** y **catalasa**.

Las hidroperoxidasas protegen al cuerpo contra peróxidos perjudiciales. La acumulación de peróxidos puede llevar a la generación de radicales libres, que a su vez llegan a alterar membranas y tal vez causar enfermedades, entre ellas cáncer y aterosclerosis (caps. 15 y 44).

Las peroxidasas reducen peróxidos usando diversos aceptores de electrones

Las peroxidasas se encuentran en la leche y en los leucocitos, las plaquetas y otros tejidos comprendidos en el metabolismo de

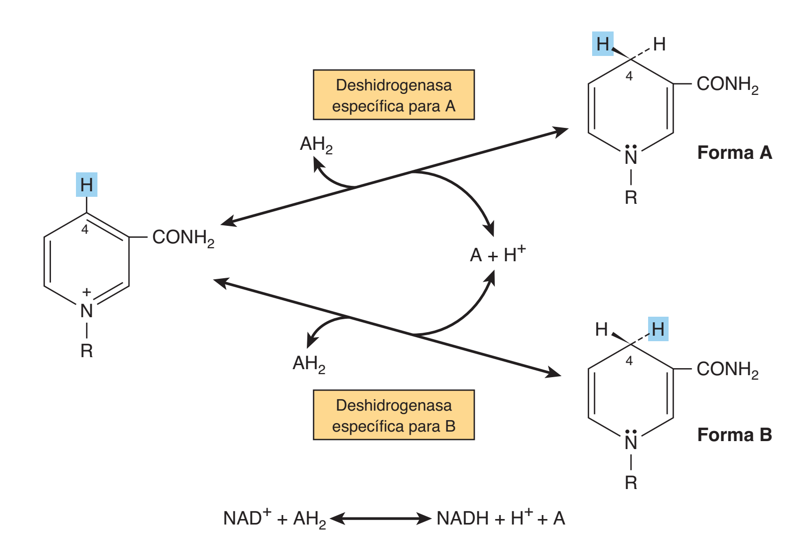


FIGURA 12–4 Mecanismo de oxidación y reducción de coenzimas nicotinamida. Hay estereoespecificidad alrededor de la posición 4 de la nicotinamida cuando es reducida por un sustrato AH_2. Uno de los átomos de hidrógeno es eliminado del sustrato como un núcleo de hidrógeno con dos electrones (ion hidruro, H^-) y es transferido a la posición 4, donde puede quedar fijo en la forma A o a la B de acuerdo con la especificidad determinada por la deshidrogenasa particular que cataliza la reacción. El hidrógeno restante del par de hidrógenos eliminados del sustrato permanece libre como un ion hidrógeno.

eicosanoides (cap. 23). El grupo prostético es el protohem. En la reacción catalizada por peroxidasa, el peróxido de hidrógeno se reduce a expensas de varias sustancias que actúan como aceptores de electrones, como ascorbato, quinonas y citocromo *c*. La reacción catalizada por peroxidasa es compleja, pero la reacción general es como sigue:

$$H_2O_2 + AH_2 \xrightarrow{\text{PEROXIDASA}} 2H_2O + A$$

En los eritrocitos y otros tejidos, la enzima **glutatión peroxidasa**, que contiene **selenio** como un grupo prostético, cataliza la destrucción del H_2O_2 y de hidroperóxidos lipídicos mediante la conversión de glutatión reducido hacia su forma oxidada, lo que protege a los lípidos de membrana y a la hemoglobina contra oxidación por peróxidos (cap. 21).

La catalasa usa peróxido de hidrógeno como donador y aceptor de electrones

La **catalasa** es una hemoproteína que contiene cuatro grupos hem. Además de poseer actividad de peroxidasa, puede emplear una molécula de H_2O_2 como sustrato donador de electrones, y otra molécula de H_2O_2 como un oxidante o aceptor de electrones.

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{CATALASA}} 2H_2O_2 + O_2$$

En casi todas las circunstancias *in vivo*, la actividad de peroxidasa de la catalasa parece ser favorecida. La catalasa se encuentra en sangre, médula ósea, mucosas, riñones e hígado. Funciona para destruir el peróxido de hidrógeno formado por la acción de oxidasas. Los **peroxisomas** se encuentran en muchos tejidos, entre ellos el hígado. Tienen alto contenido de oxidasas y de catalasa. De este modo, las enzimas que originan H_2O_2 están agrupadas con la enzima que lo destruye. Con todo, los sistemas de transporte de electrones mitocondrial y microsómico, así como la xantina oxidasa, deben considerarse fuentes adicionales de H_2O_2.

LAS OXIGENASAS CATALIZAN LA TRANSFERENCIA E INCORPORACIÓN DIRECTAS DE OXÍGENO HACIA UNA MOLÉCULA DE SUSTRATO

Las oxigenasas se encargan de la síntesis o degradación de muchos tipos diferentes de metabolitos. Catalizan la incorporación de oxígeno hacia una molécula de sustrato en dos pasos: 1) el oxígeno se une a la enzima en el sitio activo y 2) el oxígeno unido se reduce o transfiere hacia el sustrato. Las oxigenasas pueden dividirse en dos subgrupos: dioxigenasas y monooxigenasas.

Las dioxigenasas incorporan ambos átomos de oxígeno molecular hacia el sustrato

La reacción básica catalizada por dioxigenasas se muestra a continuación:

$$A + O_2 \rightarrow AO_2$$

Los ejemplos son las enzimas hepáticas, **homogentisato dioxigenasa** (oxidasa) y **3-hidroxiantranilato dioxigenasa** (oxidasa) que contienen hierro, y **L-triptófano dioxigenasa** (triptófano pirrolasa) (cap. 29), que utiliza hem.

Las monooxigenasas (oxidasas de función mixta, hidroxilasas) incorporan sólo un átomo de oxígeno molecular hacia el sustrato

El otro átomo de oxígeno se reduce a agua; para este propósito se requiere un donador de electrones adicional o cosustrato (Z).

$$A—H + O_2 + ZH_2 \rightarrow A—OH + H_2O + Z$$

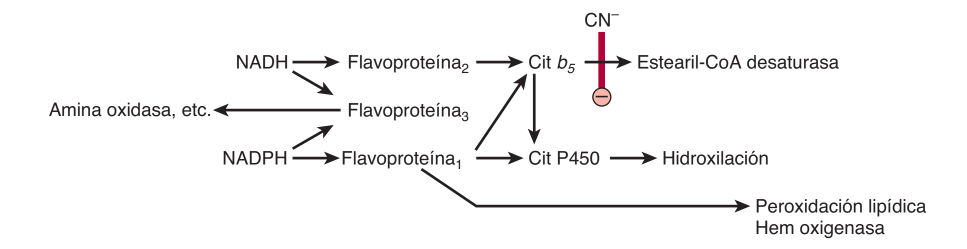


FIGURA 12–5 Cadena de transporte de electrones en el retículo endoplásmico. El cianuro (CN^-) inhibe el paso indicado.

Los citocromos P450 son monooxigenasas importantes para la detoxificación de muchos fármacos y la hidroxilación de esteroides

Los **citocromos P450** son una importante superfamilia de monooxigenasas que contienen hem, y en el genoma humano se han encontrado más de 50 de esas enzimas. Estos citocromos están localizados sobre todo en el retículo endoplásmico en hígado e intestino, aunque también se encuentran en las mitocondrias en algunos tejidos. Tanto el NADH como el NADPH donan equivalentes reductores para la reducción de estos citocromos (**figura 12-5**) que, a su vez, son oxidados por sustratos en una serie de reacciones enzimáticas conocidas en conjunto como **ciclo de la hidroxilasa** (**figura 12-6**). En el retículo endoplásmico del hígado, los citocromos P450 se encuentran junto con el **citocromo *b*$_5$**, y tienen una función importante en la destoxificación y metabolismo de fármacos: son responsables de cerca de 75% de la modificación y degradación de fármacos que ocurre en el cuerpo. El índice de destoxificación de muchos fármacos medicinales por citocromos P450 determina la duración de su acción. El benzpireno, la aminopirina, la anilina, morfina y benzfetamina son hidroxilados, lo que aumenta su solubilidad y ayuda a su excreción. Muchos medicamentos, como el fenobarbital, tienen la capacidad para inducir la síntesis de citocromos P450.

Los sistemas de citocromo P450 mitocondriales se encuentran en los tejidos esteroidogénicos como corteza suprarrenal, testículos, ovarios y placenta, y participan en la biosíntesis de hormonas esteroides a partir del colesterol (hidroxilación en C_{22} y C_{20} en la división de la cadena lateral, y en las posiciones 11β y 18). Además, los sistemas renales que catalizan 1α- y 24-hidroxilaciones del 25-hidroxicolecalciferol en el metabolismo de la vitamina D —y colesterol 7α-hidroxilasa y esterol 27-hidroxilasa incluidas en la biosíntesis de ácidos biliares en el hígado a partir del colesterol (cap. 26)— son enzimas P450.

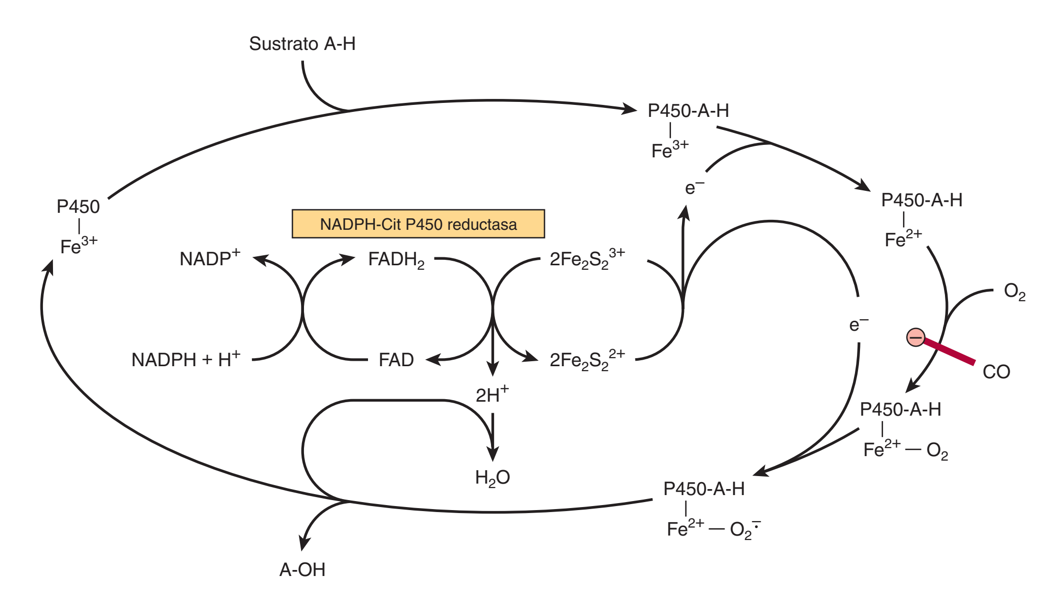


FIGURA 12–6 Ciclo de la citocromo P450 hidroxilasa. El sistema mostrado es típico de las hidroxilasas esteroides de la corteza suprarrenal. La citocromo P450 hidroxilasa microsómica hepática no necesita la proteína hierro-azufre Fe_2S_2. El monóxido de carbono (CO) inhibe el paso indicado.

LA SUPERÓXIDO DISMUTASA PROTEGE A LOS ORGANISMOS AERÓBICOS CONTRA TOXICIDAD POR OXÍGENO

La transferencia de un electrón único al O_2 genera el **radical libre anión superóxido** (**$O_2^{\bar{\cdot}}$**) en potencia perjudicial, que da lugar a reacciones en cadena de radical libre (cap. 5), lo cual amplifica sus efectos destructivos. La facilidad con la cual puede formarse superóxido a partir de oxígeno en los tejidos, y la presencia de **superóxido dismutasa**, la enzima de la cual depende su eliminación en todos los organismos aeróbicos (aunque no en anaerobios obligados), indican que la toxicidad potencial del oxígeno se debe a su conversión en superóxido.

El superóxido se forma cuando flavinas reducidas —presentes, por ejemplo, en la xantina oxidasa— se vuelven a oxidar de manera univalente por oxígeno molecular.

$$\text{Enz} - \text{Flavina} - H_2 + O_2 \rightarrow \text{Enz} - \text{Flavina} - H + O_2^{\bar{\cdot}} + H^+$$

El superóxido puede reducir citocromo *c* oxidado

$$O_2^{\bar{\cdot}} + \text{Cit } c\ (Fe^{3+}) \rightarrow O_2 + \text{Cit } c\ (Fe^{2+})$$

o ser eliminado por la superóxido dismutasa.

En esta reacción, el superóxido actúa como oxidante y como reductor. De este modo, la superóxido dismutasa protege a los organismos aerobios contra los efectos perjudiciales potenciales del superóxido. La enzima se encuentra en todos los tejidos aerobios principales en las mitocondrias y el citosol. Si bien la exposición de animales a una atmósfera de oxígeno al 100% causa un incremento adaptativo de la superóxido dismutasa, sobre todo en pulmones, la exposición prolongada conduce a daño pulmonar y muerte. Los antioxidantes, por ejemplo, α-tocoferol (vitamina E), actúan como recolectores de radicales libres y reducen la toxicidad del oxígeno (cap. 44).

RESUMEN

- En sistemas biológicos, al igual que los sistemas químicos, la oxidación (pérdida de electrones) siempre se acompaña de reducción de un aceptor de electrones.
- Las oxidorreductasas tienen diversas funciones en el metabolismo; las oxidasas y las deshidrogenasas desempeñan funciones importantes en la respiración; las hidroperoxidasas protegen al cuerpo contra daño por radicales libres, y las oxigenasas median la hidroxilación de fármacos y esteroides.
- Los tejidos están protegidos contra toxicidad por oxígeno causada por el radical libre superóxido por medio de la enzima específica superóxido dismutasa.

REFERENCIAS

Babcock GT, Wikstrom M: Oxygen activation and the conservation of energy in cell respiration. Nature 1992;356:301.

Coon MJ: Cytochrome P450: Nature's most versatile biological catalyst. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2005;4:1.

Harris DA: *Bioenergetics at a Glance: An Illustrated Introduction*. Blackwell Publishing, 1995.

Johnson F, Giulivi C: Superoxide dismutases and their impact upon human health. Mol Aspects Med 2005;26.

Nicholls DG, Ferguson SJ: *Bioenergetics3*. Academic Press, London 2002.

Raha S, Robinson BH: Mitochondria, oxygen free radicals, disease and aging. Trends Biochem Sci 2000;25:502.

CAPÍTULO

13

La cadena respiratoria y fosforilación oxidativa

Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir la estructura de doble membrana de las mitocondrias, e indicar la ubicación de diversas enzimas.
- Apreciar que casi toda la energía proveniente de la oxidación de sustratos energéticos (grasas, carbohidratos, aminoácidos) es liberada en mitocondrias como equivalentes reductores, que se transfieren mediante un proceso llamado transporte de electrones, por medio de una serie de transportadores o complejos de oxidorreducción (redox) embebidos en la membrana mitocondrial interna, conocidos como cadena respiratoria, hasta que finalmente se hace que reaccionen con oxígeno para formar agua.
- Describir los cuatro complejos proteínicos involucrados en la transferencia de electrones por la cadena respiratoria, y explicar los papeles de las flavoproteínas, las proteínas hierro-azufre y la coenzima Q.
- Entender cómo la coenzima Q acepta electrones provenientes del NADH mediante el complejo I, y del $FADH_2$ por medio del complejo II.
- Indicar cómo los electrones se transfieren desde coenzima Q reducida hacia citocromo *c* por medio del complejo III en el ciclo Q.
- Explicar el proceso mediante el cual el citocromo *c* reducido es oxidado, y el oxígeno es reducido a agua mediante el complejo IV.
- Entender cómo el transporte de electrones por la cadena respiratoria genera un gradiente de protón a través de la membrana mitocondrial interna, lo que lleva a la acumulación de una fuerza motriz de protón que genera ATP mediante el proceso de fosforilación oxidativa.
- Describir la estructura de la enzima ATP sintasa, y explicar cómo funciona como un motor giratorio para producir ATP a partir de ADP y Pi.
- Identificar las cinco condiciones que controlan la tasa de respiración en mitocondrias, y entender que la oxidación de equivalentes reductores por medio de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa se encuentran estrechamente acoplados en casi todas las circunstancias, de modo que una no puede proceder a menos que la otra esté funcionando.
- Indicar ejemplos de venenos comunes que bloquean la respiración o la fosforilación oxidativa, e identificar su sitio de acción.
- Explicar, con ejemplos, de qué modo los desacopladores pueden actuar como venenos al disociar la oxidación por medio de la cadena respiratoria, de la fosforilación oxidativa, pero también pueden tener un papel fisiológico en la generación de calor corporal.
- Explicar el papel de los transportadores de intercambio presentes en la membrana mitocondrial interna al permitir el paso de iones y metabolitos mientras se preservan los equilibrios electroquímico y osmótico.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los organismos aerobios pueden captar una proporción mucho mayor de la energía libre disponible de los sustratos respiratorios que los organismos anaerobios. La mayor parte de este proceso tiene lugar dentro de las mitocondrias, que se han denominado las "centrales de energía" de la célula. La respiración está acoplada a la generación del intermediario de alta energía, ATP, por medio de **fosforilación oxidativa**. Diversos fármacos (p. ej., **amobarbital**) y venenos (p. ej., **cianuro, monóxido de carbono**) inhiben la fosforilación oxidativa, por lo general con consecuencias mortales. Se han señalado varios defectos hereditarios de las mitocondrias, que afectan componentes de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa. Los pacientes muestran **miopatía** y **encefalopatía**, y suelen tener **acidosis láctica**.

ENZIMAS ESPECÍFICAS ACTÚAN COMO MARCADORES DE COMPARTIMIENTOS SEPARADOS POR LAS MEMBRANAS MITOCONDRIALES

Las mitocondrias tienen una **membrana externa** permeable a casi todos los metabolitos, y una **membrana interna** selectivamente permeable, que encierra una **matriz** (**figura 13-1**). La membrana externa se caracteriza por la presencia de diversas enzimas, entre ellas la **acil-CoA sintetasa** y **glicerolfosfato aciltransferasa**. La **adenilil cinasa** y la **creatina cinasa** se encuentran en **el espacio intermembrana**. El fosfolípido **cardiolipina** está concentrado en la membrana interna, junto con las enzimas de **la cadena respiratoria, ATP sintasa** y diversos **transportadores de membrana**.

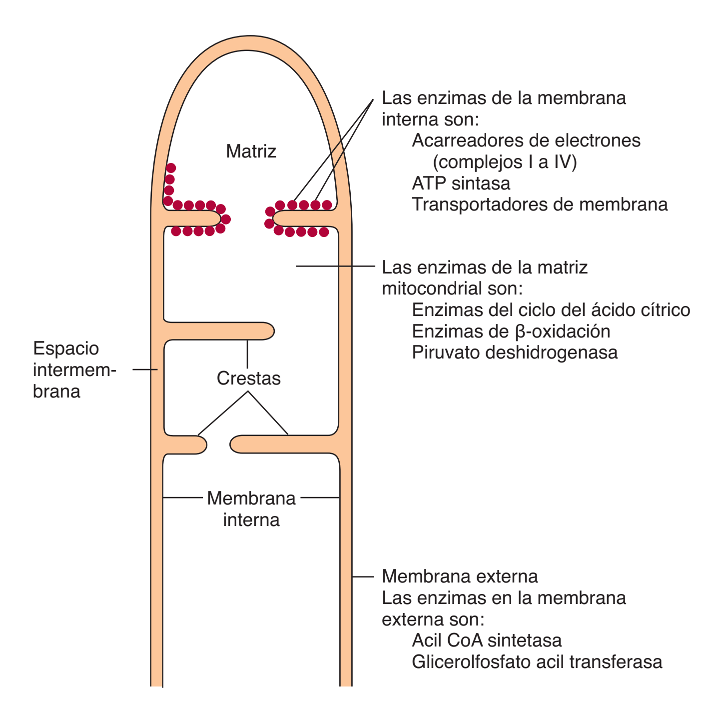


FIGURA 13–1 Estructura de las membranas mitocondriales. Note que la membrana interna contiene muchos pliegues (crestas).

LA CADENA RESPIRATORIA OXIDA EQUIVALENTES REDUCTORES Y ACTÚA COMO UNA BOMBA DE PROTONES

Casi toda la energía que se libera durante la oxidación de carbohidratos, ácidos grasos y aminoácidos queda disponible dentro de las mitocondrias como equivalentes reductores (—H o electrones) (**figura 13-2**). Note que las enzimas del ciclo del ácido cítrico y de la β-oxidación (caps. 22 y 17) están contenidas en mitocondrias, junto con la **cadena respiratoria**, que reúne y transporta equivalentes reductores, y los dirige hacia su reacción final con oxígeno para formar agua, y la maquinaria para la fosforilación oxidativa, el proceso mediante el cual la energía libre liberada se atrapa como **fosfato de alta energía**.

Los componentes de la cadena respiratoria están contenidos en cuatro complejos proteínicos grandes insertos en la membrana mitocondrial interna

Los electrones fluyen por la cadena respiratoria a través de un intervalo redox de 1.1 V desde NAD^+/NADH hacia $O_2/2H_2O$ (cuadro 12-1), y pasan por tres complejos proteínicos grandes: **NADH-Q oxidorreductasa (complejo I)**, donde se transfieren electrones desde NADH hacia la **coenzima Q (Q)** (también llamada **ubiquinona**); **Q-citocromo *c* oxidorreductasa (complejo III)**, que pasa los electrones hacia el **citocromo *c***, y **citocromo *c* oxidasa (complejo IV)**, que completa la cadena, pasa los electrones hacia O_2 y hace que se reduzca a H_2O (**figura 13-3**). Algunas sustancias con potenciales redox más positivos que NAD^+/NADH (p. ej., succinato) pasan electrones hacia Q por medio de un cuarto complejo, la **succinato-Q reductasa (complejo II)**, en lugar de mediante el complejo I. Los cuatro complejos están embebidos en la membrana mitocondrial interna, pero Q y citocromo *c* son móviles. Q se difunde con rapidez dentro de la membrana, mientras que el citocromo *c* es una proteína soluble. El flujo de electrones a través de los complejos I, III y IV da por resultado el bombeo de protones desde la matriz a través de la membrana mitocondrial interna hacia el espacio intermembrana (figura 13-7).

Las flavoproteínas y las proteínas hierro-azufre (Fe-S) son componentes de los complejos de la cadena respiratoria

Las **flavoproteínas** (cap. 12) son componentes de importancia de los complejos I y II. El nucleótido flavina oxidado (FMN o FAD) puede reducirse en reacciones que involucran la transferencia de dos electrones (para formar $FMNH_2$ o $FADH_2$), pero

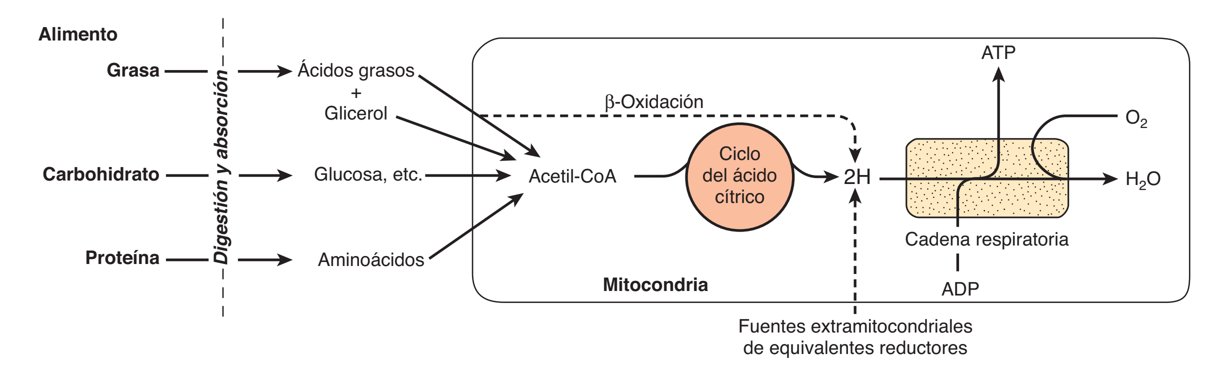


FIGURA 13–2 Papel de la cadena respiratoria de mitocondrias en la conversión de energía de los alimentos en ATP. La oxidación de los principales comestibles lleva a la generación de equivalentes reductores (2H) que son recolectados por la cadena respiratoria para oxidación y generación acoplada de ATP.

también pueden aceptar un electrón para formar la semiquinona (figura 12-2). Las **proteínas hierro-azufre (proteínas hierro no hem, Fe-S)** se encuentran en los complejos I, II y III, los cuales pueden contener uno, dos o cuatro átomos de Fe enlazados a átomos de azufre inorgánico, o por medio de grupos de cisteína-SH a la proteína, o ambos (**figura 13-4**). Las Fe-S participan en reacciones de transferencia de un solo electrón en las cuales un átomo de Fe pasa por oxidorreducción entre Fe^{2+} y Fe^{3+}.

Q acepta electrones mediante los complejos I y II

La NADH-Q oxidorreductasa o complejo I es una proteína grande, en forma de L, de múltiples subunidades, que cataliza la transferencia de electrones desde NADH hacia Q, junto con la transferencia de cuatro H^+ a través de la membrana:

$$\text{NADH} + \text{Q} + 5\text{H}^+_{\text{matriz}} \rightarrow \text{NAD} + \text{QH}_2 + 4\text{H}^+_{\text{espacio intermembrana}}$$

En un inicio los electrones se transfieren desde NADH hacia FMN, después hacia una serie de centros Fe-S y, por último, hacia Q (**figura 13-5**). En el complejo II (succinato-Q reductasa), se forma $FADH_2$ durante la conversión de succinato en fumarato en el ciclo del ácido cítrico (figura 17-3) y a continuación los electrones se pasan por medio de varios centros Fe-S hacia Q (figura 13-5). El glicerol-3-fosfato (generado en la desintegración de triacilgliceroles o a partir de la glucólisis, figura 18-2) y la acil-CoA también pasan electrones hacia Q mediante vías diferentes en que participan flavoproteínas (figura 13-5).

El ciclo Q acopla la transferencia de electrones al transporte de protones en el complejo III

Los electrones se pasan desde QH_2 hacia el citocromo *c* por medio del complejo III (Q-citocromo *c* oxidorreductasa):

$$\text{QH}_2 + 2\text{Cit}\ c_{\text{oxidado}} + 2\text{H}^+_{\text{matriz}} \rightarrow \text{Q} + 2\ \text{Cit}\ c_{\text{reducido}} + 4\text{H}^+_{\text{espacio intermembrana}}$$

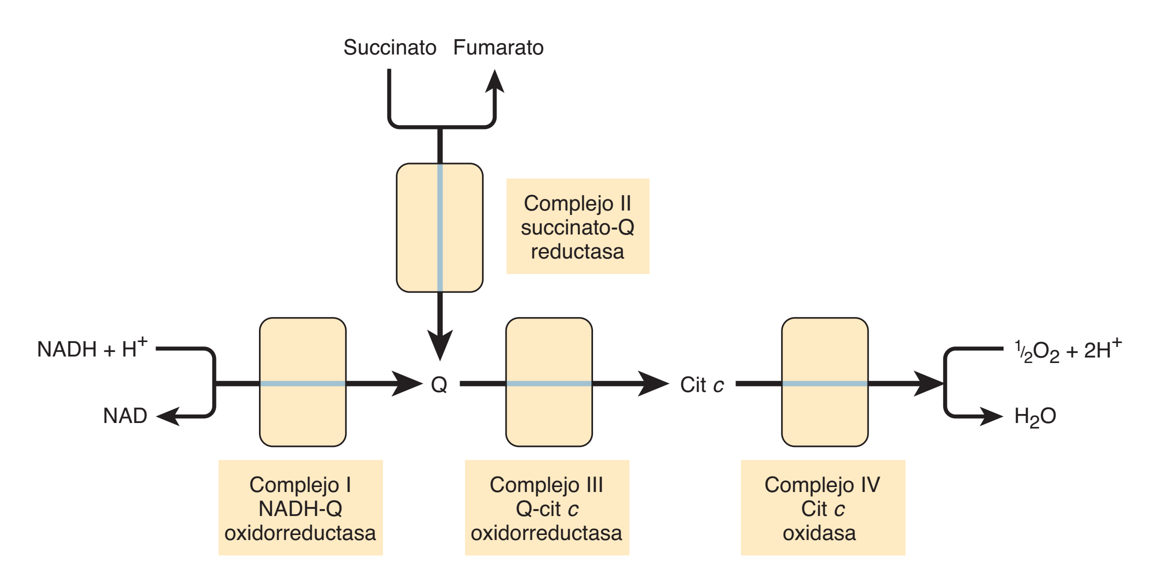


FIGURA 13–3 Perspectiva general del flujo de electrones por la cadena respiratoria. (cit, citocromo; Q, coenzima Q o ubiquinona.)

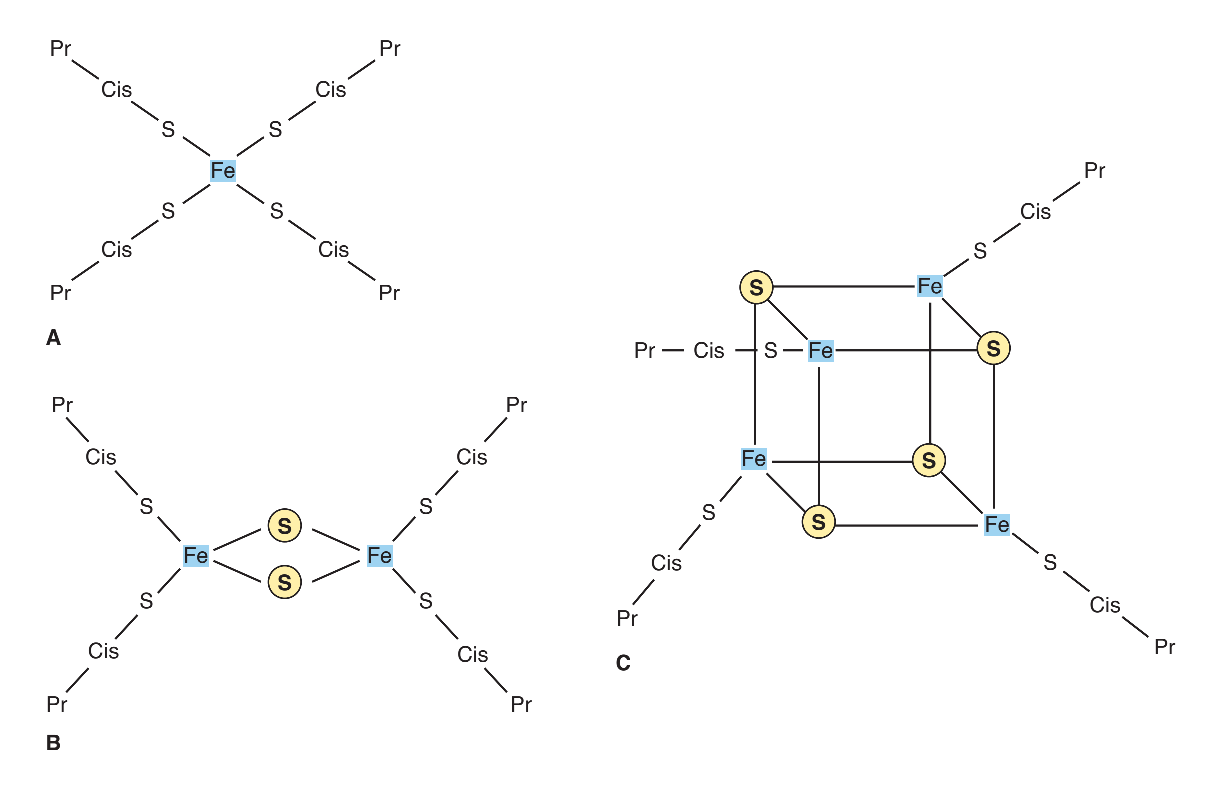


FIGURA 13–4 Proteínas de hierro-azufre (Fe-S). A) La Fe-S más simple con un enlace de Fe por cuatro cisteínas. **B)** 2Fe-2S. **C)** Centro 4Fe-4S. (Cis, cisteína; Pr, apoproteína; Ⓢ, azufre inorgánico.)

Se cree que el proceso incluye **citocromos** c_1, b_L **y** b_H, y un **Fe-S Rieske** (un Fe-S poco común en el cual uno de los átomos de Fe está enlazado a dos residuos de histidina más que a dos residuos de cisteína) (figura 13-5), y se conoce como el **ciclo Q** (**figura 13-6**). Q puede existir en tres formas, la quinona oxidada, el quinol reducido o la semiquinona (figura 13-6). Esta última se forma de modo transitorio durante el ciclo, una vuelta del cual origina la oxidación de $2QH_2$ a Q, lo que libera $4H^+$ hacia el espacio intermembrana, y la reducción de una Q a QH_2, lo que hace que $2H^+$ sean captados desde la matriz (figura 13-6). Note que aun cuando Q acarrea dos electrones, los citocromos acarrean sólo uno; de esta manera, la oxidación de un QH_2 está

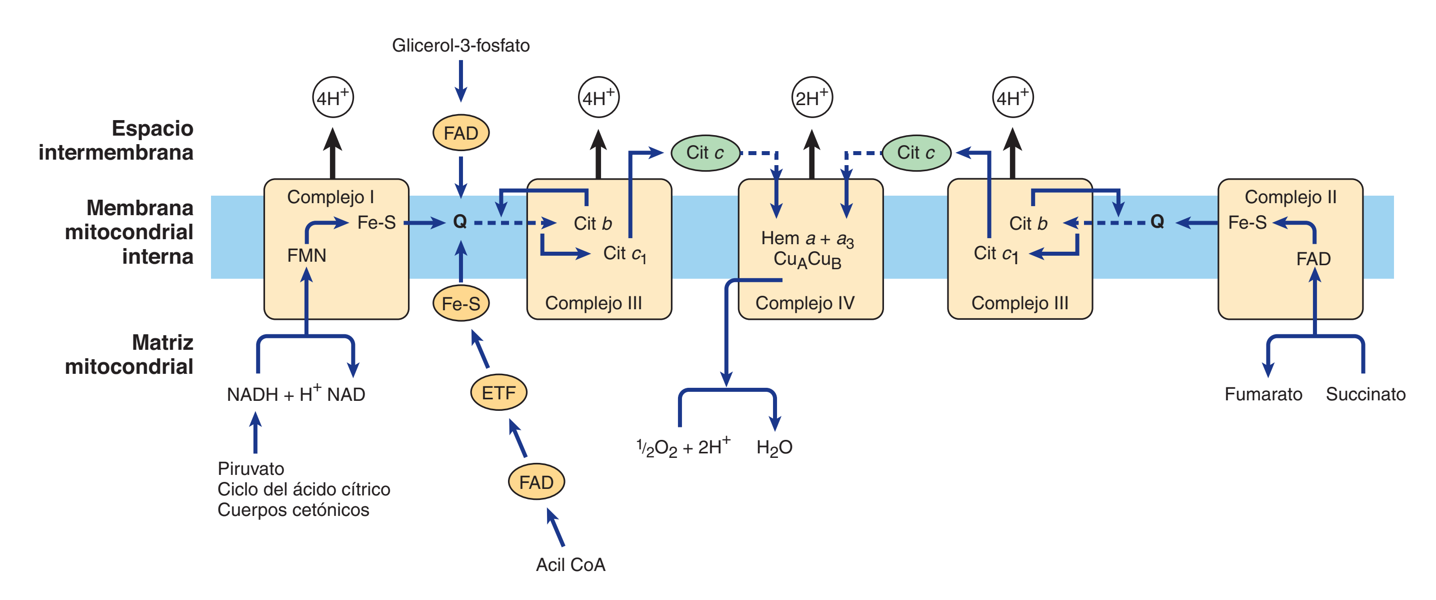


FIGURA 13–5 Flujo de electrones a través de los complejos de cadena respiratoria, que muestra los puntos de entrada de equivalentes reductores desde sustratos importantes. Q y cit son componentes móviles del sistema según se indica por las flechas punteadas. El flujo a través del complejo III (el ciclo Q) se muestra con mayor detalle en la figura 13-6. (Fe-S, proteína hierro-azufre; ETF, flavoproteína transferidora de electrón; Q, coenzima Q o ubiquinona; cit, citocromo.)

QH_2: forma reducida (quinol) (QH_2) **Q:** forma oxidada por completo (quinona) **$^{\bullet}Q^{-}$:** forma semiquinona (radical libre)

FIGURA 13–6 **El ciclo Q.** Durante la oxidación de QH_2 a Q, un electrón es donado al cit *c* mediante un Fe-S de Rieske y cit c_1, y el segundo a una Q para formar la semiquinona por medio del cit b_L y cit b_H; se libera $2H^+$ hacia el espacio intermembrana. A continuación ocurre un proceso similar con un segundo QH_2, pero en este caso el segundo electrón es donado a la semiquinona, lo que la reduce a QH_2, y $2H^+$ son captados desde la matriz. (cit, citocromo; Fe-S, proteína hierro-azufre; Q, coenzima Q o ubiquinona.)

acoplada a la reducción de dos moléculas de citocromo *c* mediante el ciclo Q.

El oxígeno molecular se reduce hacia agua por medio del complejo IV

El complejo IV (citocromo *c* oxidasa) oxida el citocromo *c* reducido, con la reducción concomitante de O_2 hacia dos moléculas de agua:

$$4\text{Cit } c_{\text{reducido}} + O_2 + 8H^+_{\text{matriz}} \rightarrow 4\text{Cit } c_{\text{oxidado}} + 2H_2O + 4H^+_{\text{espacio intermembrana}}$$

Esta transferencia de cuatro electrones desde el citocromo *c* hacia O_2 comprende **dos grupos hem, *a* y a_3**, y **Cu** (figura 13-5). Los electrones se pasan inicialmente a un centro de Cu (Cu_A), que contiene átomos 2Cu enlazados a dos grupos proteína cisteína-SH (que semejan una Fe-S), luego en secuencia hacia hem *a*, hem a_3, un segundo centro de Cu, Cu_B, que está enlazado a hem a_3, y por último a O_2. De los ocho H^+ eliminados de la matriz, cuatro se usan para formar dos moléculas de agua, y cuatro se bombean hacia el espacio intermembrana. De este modo, por cada par de electrones que pasa por la cadena desde NADH o $FADH_2$, el complejo IV bombea $2H^+$ a través de la membrana. El O_2 permanece estrechamente unido al complejo IV hasta que se reduce por completo, y esto minimiza la liberación de intermediarios en potencia perjudiciales, como aniones superóxido, o peróxido, que se forman cuando el O_2 acepta uno o dos electrones, respectivamente (cap. 12).

EL TRANSPORTE DE ELECTRONES MEDIANTE LA CADENA RESPIRATORIA CREA UN GRADIENTE DE PROTÓN QUE IMPULSA LA SÍNTESIS DE ATP

El flujo de electrones por la cadena respiratoria genera ATP por medio del proceso de **fosforilación oxidativa**. La **teoría quimiosmótica**, propuesta por Peter Mitchell en 1961, postula que los dos procesos están acoplados mediante un gradiente de protón a través de la membrana mitocondrial interna, de manera que la **fuerza motriz de protón** causada por la diferencia de potencial electroquímico (negativa en el lado de la matriz) impulsa el mecanismo de síntesis de ATP. Como se mencionó, los complejos I, III y IV actúan como **bombas de protones**. Dado que la membrana mitocondrial interna es impermeable a iones en general, y en especial a protones, éstos se acumulan en el espacio intermembrana, lo que crea la fuerza motriz de protón predicha por la teoría quimiosmótica.

Una ATP sintasa ubicada en la membrana funciona como un motor rotatorio para formar ATP

La fuerza motriz de protón impulsa una **ATP sintasa** ubicada en la membrana que en presencia de P_i + ADP forma ATP. La ATP sintasa está embebida en la membrana interna, junto con los complejos de la cadena respiratoria (**figura 13-7**). Varias subunidades de la proteína forman una estructura parecida a bola alrededor de un eje conocido como F_1, que se proyecta hacia

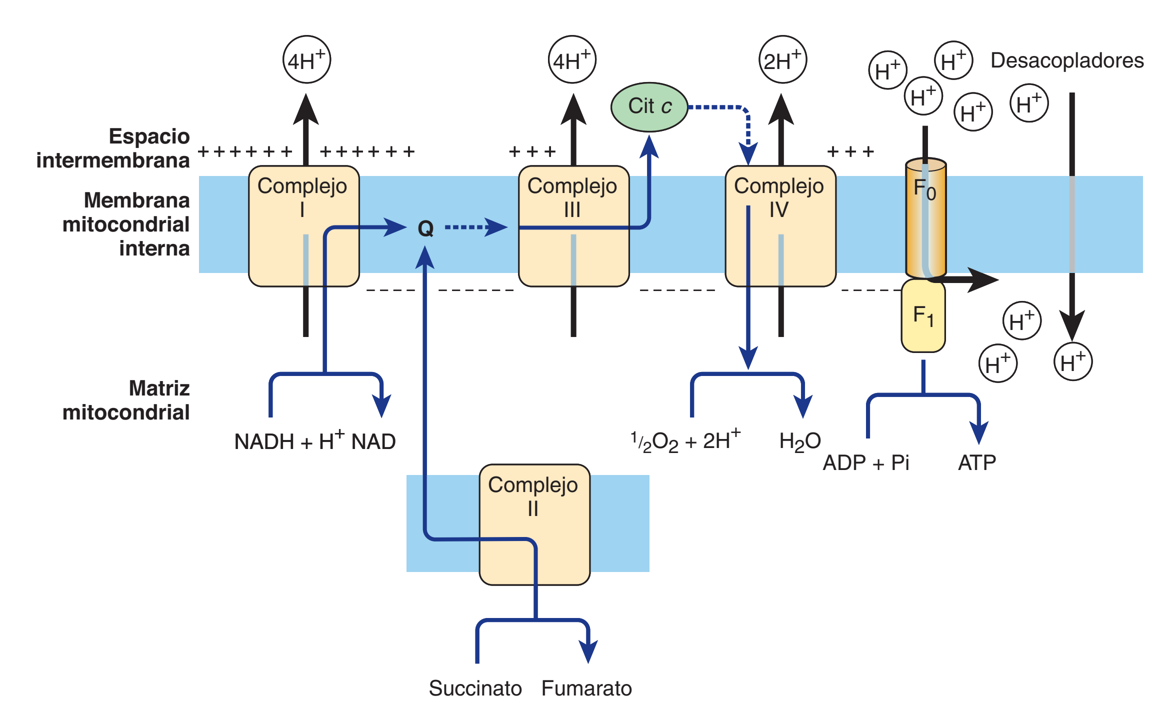


FIGURA 13–7 **La teoría quimiosmótica de la fosforilación oxidativa.** Los complejos II, III y IV actúan como bombas de protón, lo que crea un gradiente de protón a través de la membrana, que es negativa en el lado de la matriz. La fuerza motriz de protón generada impulsa la síntesis de ATP conforme los protones fluyen de regreso hacia la matriz por medio de la enzima ATP sintasa (figura 13-8). Los desacopladores aumentan la permeabilidad de la membrana a iones, lo que colapsa el gradiente de protón al permitir que el H^+ pase sin atravesar la ATP sintasa y, así, desacopla el flujo de electrón a través de los complejos respiratorios, de la síntesis de ATP. (Q, coenzima Q o ubiquinona; cit, citocromo.)

la matriz y contiene el mecanismo de fosforilación (**figura 13-8**). F_1 está fijo a un complejo de proteína de membrana conocido como F_0, que también consta de varias subunidades proteínicas. F_0 abarca la membrana y forma un canal de protones. El flujo de estos últimos a través de F_0 hace que rote, lo que impulsa la producción de ATP en el complejo F_1 (figuras 13-7 y 13-8). Se cree que esto ocurre por medio de un **mecanismo de cambio de unión** en el cual, a medida que el eje rota, la conformación de las subunidades β en F_1 cambia desde una que se une con firmeza al ATP hacia una que libera ATP y se une a ADP y P_i, de modo

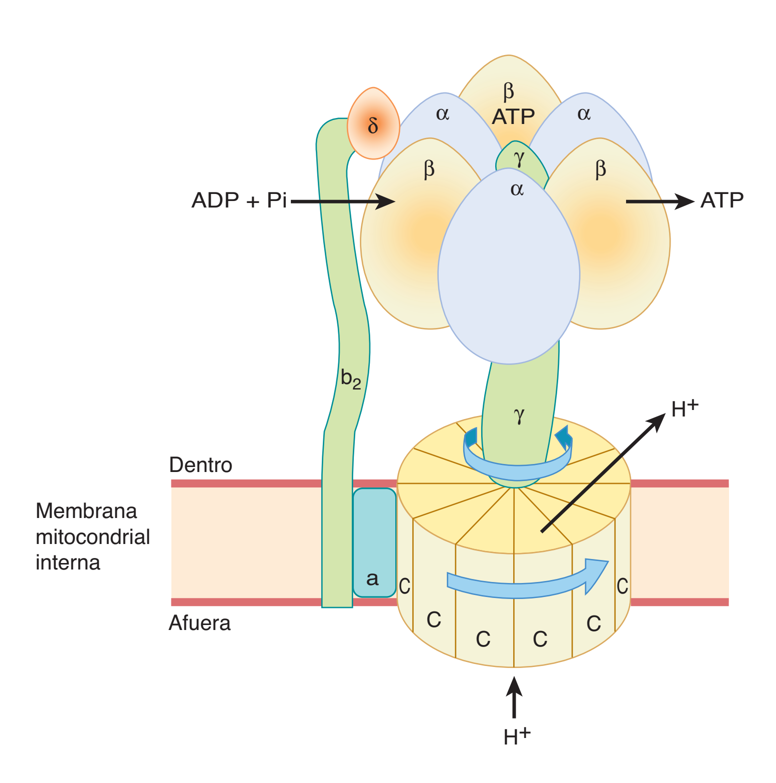


FIGURA 13–8 **Mecanismo de producción de ATP por la ATP sintasa.** El complejo enzimático consta de un subcomplejo F_0 que es un disco de subunidades de proteína "C". Hay una subunidad γ fija en forma de un "eje doblado". Los protones que pasan por el disco de unidades "C" hacen rotar el disco y la subunidad γ fija. La subunidad γ se adapta dentro del subcomplejo F_1 de tres subunidades α y tres subunidades β, que están fijas a la membrana y no rotan. Las subunidades β captan de manera secuencial ADP y P_i para formar ATP, que se expulsa a medida que la subunidad γ rotatoria saca cada subunidad β a la vez y cambia su conformación. De este modo, se generan tres moléculas de ATP por cada revolución. En aras de la claridad, no todas las subunidades que se han identificado se muestran; por ejemplo, el "eje" también contiene una subunidad.

que puede formarse el siguiente ATP. Los estimados sugieren que por cada NADH oxidado, los complejos I y III translocan cuatro protones cada uno, y el complejo IV transloca dos.

LA CADENA RESPIRATORIA PROPORCIONA LA MAYOR PARTE DE LA ENERGÍA CAPTADA DURANTE EL CATABOLISMO

El ADP captura, en forma de fosfato de alta energía, una proporción importante de la energía libre derivada de los procesos catabólicos. El ATP resultante se ha denominado la **"moneda" de energía** de la célula porque pasa esta energía libre para impulsar los procesos que requieren energía (figura 11-6).

Hay una captación directa neta de dos grupos fosfato de alta energía en las reacciones glucolíticas (cuadro 18-1). En el ciclo del ácido cítrico se captan dos fosfatos de alta energía más por mol de glucosa durante la conversión de succinil CoA en succinato. Todas estas fosforilaciones sobrevienen en el ámbito de **sustrato**. Por cada mol de sustrato oxidado mediante los complejos I, III y IV en la cadena respiratoria (es decir, por medio de NADH), se forman 2.5 mol de ATP por cada 0.5 mol de O_2 consumido; esto es, la proporción P:O = 2.5 (figura 13-7). Por otra parte, cuando un mol de sustrato (p. ej., succinato o 3-fosfoglicerato) se oxida por medio de los complejos II, III y IV, sólo se forma 1.5 mol de ATP; es decir, P:O = 1.5. Estas reacciones se conocen como **fosforilación oxidativa en el ámbito de la cadena respiratoria**. Al tomar en cuenta estos valores, se estima que cerca de 90% de los fosfatos de alta energía producidos a partir de la oxidación completa de 1 mol de glucosa se obtiene mediante fosforilación oxidativa acoplada a la cadena respiratoria (cuadro 18-1).

El control respiratorio asegura un aporte constante de ATP

La disponibilidad de ADP puede controlar el índice de respiración de las mitocondrias, lo cual se debe a que la oxidación y fosforilación están **firmemente acopladas**; esto es, la oxidación no puede proceder por la cadena respiratoria sin fosforilación concomitante de ADP. En el **cuadro 13-1** se muestran las cinco condiciones que controlan el índice de respiración en las mitocondrias. Casi todas las células en el estado en reposo se encuentran en **estado 4**, y la disponibilidad de ADP controla la respiración. Cuando se realiza trabajo, el ATP se convierte en ADP, lo que permite que ocurra más respiración que, a su vez, reabastece las reservas de ATP. En ciertas condiciones, la concentración de fosfato inorgánico también puede afectar el índice de funcionamiento de la cadena respiratoria. A medida que se incrementa la respiración (como durante ejercicio), la célula se aproxima al **estado 3 o al estado 5** cuando la capacidad de la cadena respiratoria queda saturada o la PO_2 disminuye por debajo de la K_m para el hem a_3. También existe la posibilidad de que el transportador de ADP/ATP, que facilita la entrada de ADP citosólico a la mitocondria, y la salida de ATP desde esta última, se conviertan en el limitante de la velocidad.

CUADRO 13–1 Estados de control respiratorio

	Condiciones que limitan el índice de respiración
Estado 1	Disponibilidad de ADP y sustrato
Estado 2	Disponibilidad sólo de sustrato
Estado 3	La capacidad de la cadena respiratoria en sí, cuando todos los sustratos y los componentes están presentes en cantidades que originan saturación
Estado 4	Disponibilidad de sólo ADP
Estado 5	Disponibilidad de sólo oxígeno

De este modo, la manera en la cual los procesos oxidativos biológicos permiten que la energía libre resultante de la oxidación de alimento quede disponible para ser captada es por pasos, eficiente y controlada, en lugar de explosiva, ineficiente e incontrolada, como en muchos procesos biológicos. La energía libre restante que no se capta como fosfato de alta energía se libera como **calor**. Esto no necesita considerarse "desperdicio", porque asegura que el sistema respiratorio en conjunto sea lo bastante exergónico como para que se saque de equilibrio, lo que permite el flujo unidireccional continuo y suministro constante de ATP. También contribuye al mantenimiento de la temperatura corporal.

MUCHOS VENENOS INHIBEN LA CADENA RESPIRATORIA

Gran parte de la información acerca de la cadena respiratoria se ha obtenido por medio del uso de inhibidores y, a la inversa, esto ha proporcionado conocimiento respecto al mecanismo de acción de varios venenos (**figura 13-9**), mismos que se clasifican como inhibidores de la cadena respiratoria, inhibidores de la fosforilación oxidativa y desacopladores de esta última.

Los **barbitúricos**, como el amobarbital, inhiben el transporte de electrones mediante el complejo I al bloquear la transferencia desde Fe-S hacia Q. En dosificación suficiente, son mortales *in vivo*. La **antimicina A** y el **dimercaprol** inhiben la cadena respiratoria en el complejo III. Los venenos clásicos **H_2S**, **monóxido de carbono** y **cianuro** inhiben el complejo IV y, en consecuencia, pueden suspender por completo la respiración. El **malonato** es un inhibidor competitivo del complejo II.

El **atractilósido** inhibe la fosforilación oxidativa mediante la inhibición del transportador de ADP hacia dentro de la mitocondria, y de ATP hacia afuera de ella (**figura 13-10**). El antibiótico **oligomicina** bloquea por completo la oxidación y fosforilación al bloquear el flujo de protones por medio de la ATP sintasa (figura 13-9).

Los **desacopladores** disocian la oxidación en la cadena respiratoria, de la fosforilación (figura 13-7). Estos compuestos son tóxicos *in vivo*, lo que hace que la respiración se torne incontrolada, puesto que el índice ya no queda limitado por la concentración de ADP o P_i. El desacoplador que se ha usado con mayor frecuencia es el **2,4-dinitrofenol**, pero otros compuestos actúan de manera similar. La **termogenina** (o la **proteína desacopladora**) es un desacoplador fisiológico que se encuentra en el tejido adiposo pardo que funciona para generar calor corporal, en particular para el recién nacido y durante la hibernación en animales (cap. 25).

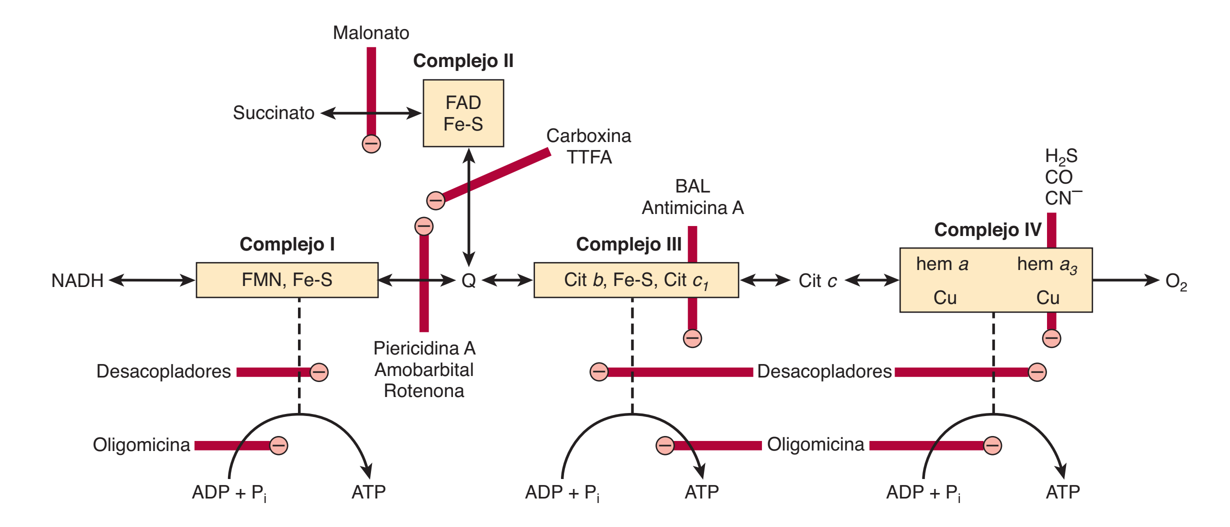


FIGURA 13–9 Sitios de inhibición (⊖) de la cadena respiratoria por fármacos, sustancias químicas y antibióticos específicos. (BAL, dimercaprol; TTFA, un agente quelante del Fe. Las otras abreviaturas significan lo mismo que las de la figura 13-5.)

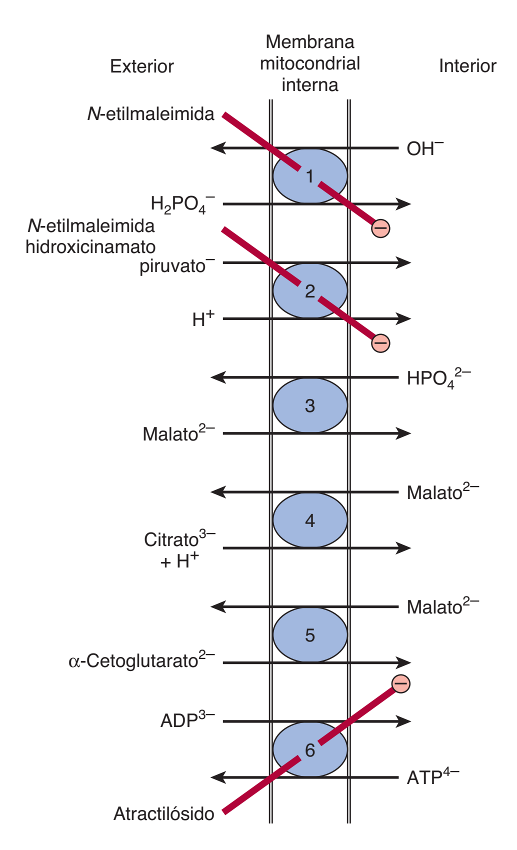


FIGURA 13–10 Sistemas transportadores en la membrana mitocondrial interna. ① transportador de fosfato, ② simporte de piruvato, ③ transportador de dicarboxilato, ④ transportador de tricarboxilato, ⑤ transportador de α-cetoglutarato, ⑥ transportador de nucleótido de adenina. La *N*-etilmaleimida, el hidroxicinamato y el atractilósido inhiben (⊖) los sistemas indicados. También están presentes (pero no se muestran) sistemas transportadores para glutamato/aspartato (figura 13-13), glutamina, ornitina, aminoácidos neutros y carnitina (figura 22-1).

LA TEORÍA QUIMIOSMÓTICA PUEDE EXPLICAR EL CONTROL RESPIRATORIO Y LA ACCIÓN DE DESACOPLADORES

La diferencia de potencial electroquímico a través de la membrana, una vez establecida como resultado de translocación de protón, inhibe el transporte adicional de equivalentes reductores por la cadena respiratoria, a menos que se descargue por translocación retrógrada de protones a través de la membrana mediante la ATP sintasa. Esto, a su vez, depende de la disponibilidad de ADP y P_i.

Los desacopladores (p. ej., dinitrofenol) son anfipáticos (cap. 15) y aumentan la permeabilidad de la membrana mitocondrial interna lipoide a protones, lo que reduce el potencial electroquímico y suscita cortocircuito de la ATP sintasa (figura 13-7). De este modo, la oxidación puede proceder sin fosforilación.

LA IMPERMEABILIDAD RELATIVA DE LA MEMBRANA MITOCONDRIAL INTERNA REQUIERE TRANSPORTADORES DE INTERCAMBIO

Sistemas de difusión de intercambio que incluyen proteínas transportadoras que abarcan la membrana están presentes en la misma para intercambio de aniones contra iones OH^- y cationes contra iones H^+. Esos sistemas se necesitan para captación y salida de metabolitos ionizados, mientras que preservan los equilibrios eléctrico y osmótico. La membrana mitocondrial interna es libremente permeable a moléculas pequeñas no cargadas, como oxígeno, agua, CO_2, NH_3 y ácidos monocarboxílicos, como son el 3-hidroxibutírico, acetoacético y acético. Los ácidos grasos de cadena larga se transportan hacia las mitocondrias por medio

del sistema de carnitina (figura 22-1), y hay también un acarreador especial para el piruvato que comprende un simporte que utiliza el gradiente de H^+ desde afuera hacia dentro de la mitocondria (figura 13-10). Sin embargo, los aniones dicarboxilato y tricarboxilato y los aminoácidos requieren sistemas transportadores o acarreadores específicos para facilitar su paso a través de la membrana. Los ácidos monocarboxílicos penetran con mayor facilidad en su forma no disociada y más liposoluble.

El transporte de aniones dicarboxilato y tricarboxilato está estrechamente enlazado con el de fosfato inorgánico, que penetra con facilidad como el ion $H_2PO_4^-$ en intercambio por OH^-. La captación neta de malato por el transportador dicarboxilato necesita fosfato inorgánico para intercambio en la dirección opuesta. La captación neta de citrato, isocitrato o *cis*-aconitato por el transportador tricarboxilato requiere malato a cambio. El transporte de α-cetoglutarato también exige un intercambio con malato. El transportador de nucleótido adenina permite el intercambio de ATP y ADP, no así de AMP. Es vital para permitir que el ATP salga de las mitocondrias hacia los sitios de utilización extramitocondrial y que ocurra el regreso de ADP para la producción de ATP dentro de la mitocondria (**figura 13-11**). Dado que en esta translocación se eliminan de la matriz cuatro cargas negativas por cada tres introducidas, el gradiente electroquímico a través de la membrana (la fuerza motriz de protón) favorece la exportación de ATP. El Na^+ puede intercambiarse por H^+, impulsado por el gradiente de protón. Se cree que la captación activa de Ca^{2+} por mitocondrias ocurre con una transferencia de carga neta de 1 (uniporte de Ca^+), posiblemente por medio de un antiporte Ca^{2+}/H^+. La liberación de calcio a partir de las mitocondrias se facilita por intercambio con Na^+.

Los ionóforos permiten que cationes específicos penetren en las membranas

Los **ionóforos** son moléculas lipofílicas que forman complejos con cationes específicos y facilitan su transporte a través de membranas biológicas, por ejemplo, **valinomicina** (K^+). En realidad, los desacopladores clásicos como el dinitrofenol, son ionóforos de protón.

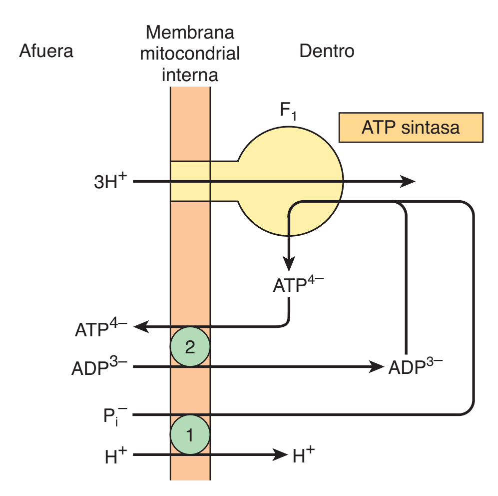


FIGURA 13–11 Combinación de transportador de fosfato ① con el transportador de nucleótido adenina ② en la síntesis de ATP. El simporte H^+/P_i mostrado es equivalente al antiporte P_i/OH^- mostrado en la figura 13-10.

Una transhidrogenasa translocadora de protón es una fuente de NADPH intramitocondrial

La **transhidrogenasa enlazada con energía**, una proteína de la membrana mitocondrial interna, acopla el paso de protones por el gradiente electroquímico desde afuera hacia dentro de la mitocondria, con la transferencia de H desde NADH intramitocondrial hacia NADPH para enzimas intramitocondriales como glutamato deshidrogenasa e hidroxilasas incluidas en la síntesis de esteroide.

La oxidación de NADH extramitocondrial está mediada por transbordadores de sustrato

El NADH no puede penetrar en la membrana mitocondrial, sino que se produce de manera continua en el citosol por la 3-fosfogliceraldehído deshidrogenasa, una enzima en la secuencia de glucólisis (figura 18-2). Empero, en condiciones aeróbicas, el NADH extramitocondrial no se acumula, y se cree que la cadena respiratoria lo oxida en las mitocondrias. La transferencia de equivalentes reductores a través de la membrana mitocondrial requiere pares de sustrato, enlazados por deshidrogenasas idóneas a cada lado de la membrana mitocondrial. En la **figura 13-12** se muestra el mecanismo de transferencia usando el **transbordador de glicerofosfato**. Puesto que la enzima mitocondrial está enlazada a la cadena respiratoria por medio de una flavoproteína más que por NAD, por cada átomo de oxígeno consumido sólo se forman 1.5 mol de ATP en lugar de 2.5. Si bien este transbordador está presente en algunos tejidos (p. ej., cerebro, músculo blanco), en otros (p. ej., músculo cardiaco) es deficiente. Por ende, se cree que el sistema del **transbordador malato** (**figura 13-13**) es de utilidad más universal. La complejidad de este sistema se debe a la impermeabilidad de la membrana mitocondrial al oxaloacetato, que debe reaccionar con el glutamato para formar aspartato y α-cetoglutarato mediante transaminación antes de transporte a través de la membrana mitocondrial y reconstitución hacia oxaloacetato en el citosol.

El transporte de ion en las mitocondrias está enlazado con energía

Las mitocondrias mantienen o acumulan cationes como K^+, Na^+, Ca^{2+}, y Mg^{2+} y P_i. Se supone que una bomba de protón primaria impulsa el intercambio de catión.

El transbordador de creatina fosfato facilita el transporte de fosfato de alta energía desde mitocondrias

Este transbordador (**figura 13-14**) incrementa las funciones de la **creatina fosfato** como un amortiguador de energía al actuar como un sistema dinámico para la transferencia de fosfato de

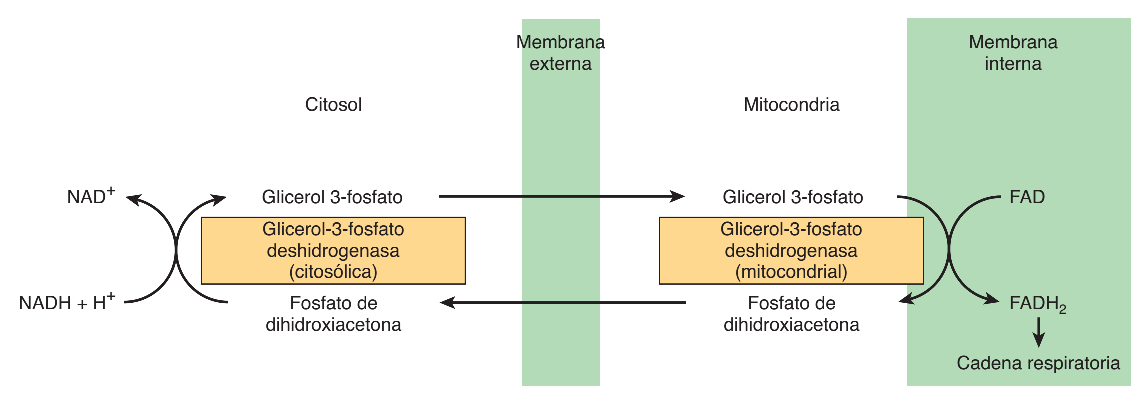


FIGURA 13–12 Transbordador de glicerofosfato para la transferencia de equivalentes reductores desde el citosol hacia la mitocondria.

alta energía desde mitocondrias en tejidos activos como el corazón y el músculo estriado. Una isoenzima de la **creatina cinasa** (CK_m) se encuentra en el espacio intermembrana mitocondrial, catalizando la transferencia de fosfato de alta energía hacia creatina desde ATP que surge a partir del transportador de nucleótido adenina. A su vez, la creatina fosfato se transporta hacia el citosol por medio de poros de proteína en la membrana mitocondrial externa, y queda disponible para la generación de ATP extramitocondrial.

ASPECTOS CLÍNICOS

La enfermedad conocida como **miopatía mitocondrial mortal infantil con disfunción renal** comprende decremento grave o falta de casi todas las oxidorreductasas de la cadena respiratoria. En el síndrome **MELAS** (del inglés *mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis and stroke*, encefalopatía, acidosis láctica y apoplejía mitocondriales) es una enfermedad hereditaria debida a deficiencia de NADH-Q oxidorreductasa (complejo I) o citocromo oxidasa (complejo IV). Se produce por una mutación del DNA mitocondrial, y se cree que está involucrada en la **enfermedad de Alzheimer** y la **diabetes mellitus**. Diversos fármacos y venenos actúan por inhibición de la fosforilación oxidativa.

RESUMEN

- Casi toda la energía liberada partir de la oxidación de carbohidratos, grasas y proteínas se pone a disposición en las mitocondrias como equivalentes reductores (—H o e^-), los cuales se encauzan hacia la cadena respiratoria, donde pasan por un gradiente redox de acarreadores hacia su reacción final con oxígeno para formar agua.
- Los acarreadores redox están agrupados en cuatro complejos de cadena respiratoria en la membrana mitocondrial interna. Tres de los cuatro complejos tienen la capacidad para usar la energía liberada en el gradiente redox para bombear protones hacia el exterior de la membrana, lo que crea un potencial electroquímico entre la matriz y el espacio de la membrana interna.
- La ATP sintasa abarca la membrana y actúa como un motor rotatorio usando la energía potencial del gradiente de protón

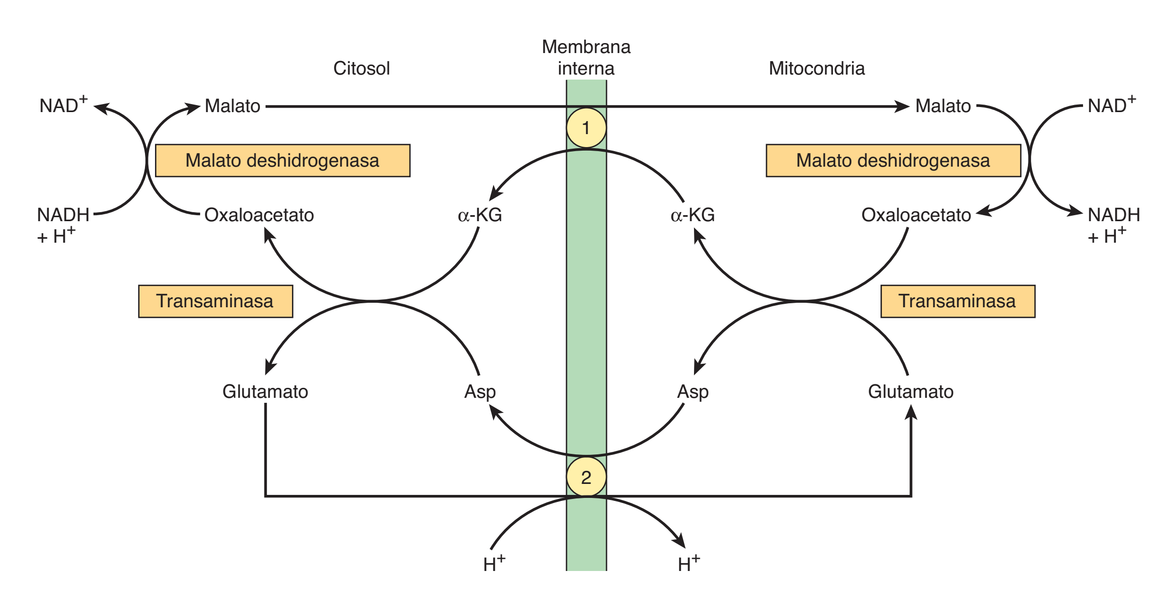


FIGURA 13–13 Transbordador de malato para transferencia de equivalentes reductores desde el citosol hacia la mitocondria. ① transportador de alfa-cetoglutarato y ② transportador de glutamato/aspartato (note el simporte de protón con glutamato).

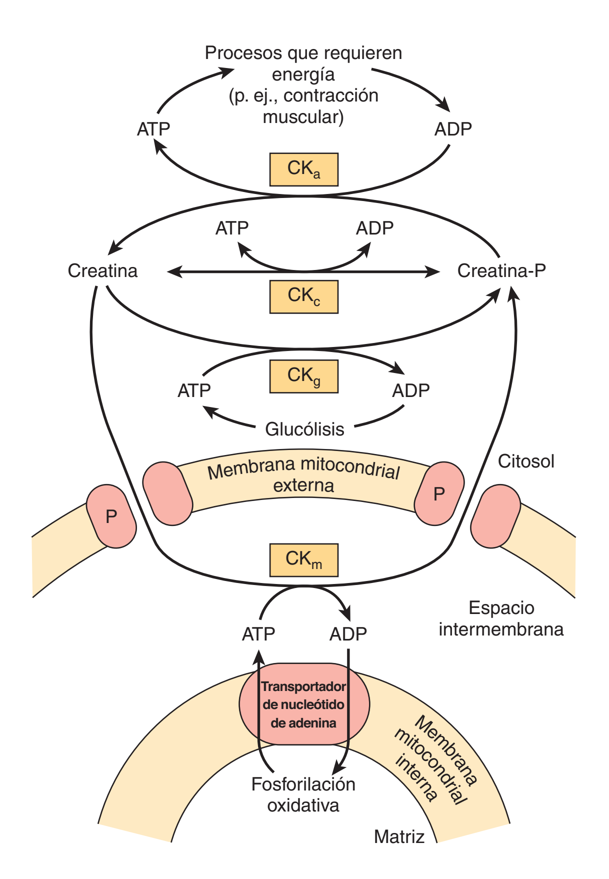


FIGURA 13–14 El transbordador de fosfato de creatina del músculo cardiaco y esquelético. El transbordador permite el transporte rápido de fosfato de alta energía desde la matriz mitocondrial hacia el citosol. (CK_a, creatina cinasa relacionada con requerimientos grandes de ATP, por ejemplo, la contracción muscular; CK_c, creatina cinasa para mantener el equilibrio entre creatina y fosfato de creatina y ATP/ADP; CK_g, creatina cinasa que acopla la glucólisis a la síntesis de fosfato de creatina; CK_m, creatina cinasa mitocondrial que media la producción de fosfato de creatina desde el ATP formado en la fosforilación oxidativa; P, proteína de poro en la membrana mitocondrial externa.)

o fuerza motriz de protón para sintetizar ATP a partir de ADP y P_i. De este modo, la oxidación está estrechamente acoplada a la fosforilación para satisfacer las necesidades de energía de las células.

- Dado que la membrana mitocondrial interna es impermeable a protones y otros iones, los transportadores de intercambio especiales abarcan la membrana para permitir que iones como OH^-, ATP^{4-}, ADP^{3-} y metabolitos, pasen sin descargar el gradiente electroquímico a través de la membrana.
- Muchos venenos bien conocidos, como el cianuro, suspenden la respiración mediante inhibición de la cadena respiratoria.

REFERENCIAS

Hinkle PC: P/O ratios of mitochondrial oxidative phosphorylation. Biochem Biophys Acta 2005;1706:1.

Kocherginsky N: Acidic lipids, H(+)-ATPases, and mechanism of oxidative phosphorylation. Physico-chemical ideas 30 years after P. Mitchell's Nobel Prize award. Prog Biophys Mol Biol 2009;99:20.

Mitchell P: Keilin's respiratory chain concept and its chemiosmotic consequences. Science 1979;206:1148.

Nakamoto RK, Baylis Scanlon JA, Al-Shawi MK: The rotary mechanism of the ATP synthase. Arch Biochem Biophys 2008;476:43.

Smeitink J, van den Heuvel L, DiMauro S: The genetics and pathology of oxidative phosphorylation. Nat Rev Genet 2001;2:342.

Tyler DD: *The Mitochondrion in Health and Disease.* VCH Publishers, 1992.

Wallace DC: Mitochondrial DNA in aging and disease. Sci Am 1997;277:22.

Yoshida M, Muneyuki E, Hisabori T: ATP synthase—a marvelous rotary engine of the cell. Nat Rev Mol Cell Biol 2001;2:669.

Carbohidratos importantes desde el punto de vista fisiológico

CAPÍTULO

14

David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar qué significan los términos monosacárido, disacárido, oligosacárido y polisacárido.
- Explicar las diferentes maneras en las cuales pueden representarse las estructuras de la glucosa y de otros monosacáridos, y describir los diversos tipos de isomerismo de azúcares y las estructuras de anillo piranosa y furanosa.
- Describir la formación de glucósidos y las estructuras de los disacáridos y polisacáridos importantes.
- Explicar qué significa el índice glucémico de un carbohidrato.
- Describir los papeles de los carbohidratos en las membranas celulares y las lipoproteínas.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los carbohidratos están ampliamente distribuidos en vegetales y animales; tienen importantes funciones estructurales y metabólicas. En los vegetales, la glucosa se sintetiza a partir de dióxido de carbono y agua por medio de fotosíntesis, y es almacenada como almidón o usada para sintetizar la celulosa de las paredes de las células vegetales. Los animales pueden sintetizar carbohidratos a partir de aminoácidos, pero casi todos se derivan finalmente de vegetales. La **glucosa** es el carbohidrato más importante; casi todo el carbohidrato de la dieta se absorbe hacia el torrente sanguíneo como glucosa formada mediante hidrólisis del almidón y los disacáridos de la dieta, y otros azúcares se convierten en glucosa en el hígado. La glucosa es el principal combustible metabólico de mamíferos (excepto de los rumiantes), y un combustible universal del feto. Es el precursor para la síntesis de todos los otros carbohidratos en el cuerpo, incluso **glucógeno** para almacenamiento; **ribosa** y **desoxirribosa** en ácidos nucleicos; **galactosa** en la síntesis de la lactosa de la leche, en glucolípidos, y en combinación con proteína en glucoproteínas y proteoglucanos. Las enfermedades relacionadas con el metabolismo de los carbohidratos son **diabetes mellitus, galactosemia, enfermedades por depósito de glucógeno**, e **intolerancia a la lactosa**.

LOS CARBOHIDRATOS SON DERIVADOS ALDEHÍDO O CETONA DE ALCOHOLES POLIHÍDRICOS

Los carbohidratos se clasifican como sigue:

1. Los **monosacáridos** son los azúcares que no se pueden hidrolizar hacia carbohidratos más simples. Pueden clasificarse como **triosas**, **tetrosas**, **pentosas**, **hexosas** o **heptosas**, dependiendo del número de átomos de carbono (3-7), y como **aldosas** o **cetosas**, dependiendo de si tienen un grupo aldehído o cetona. En el **cuadro 14-1** se listan ejemplos. Además de aldehídos y cetonas, los alcoholes polihídricos (alcoholes azúcar o **polioles**), en los cuales el grupo aldehído o cetona se ha reducido a un grupo alcohol, también se encuentran de modo natural en los alimentos. Son sintetizados por medio de reducción de monosacáridos para uso en la manufactura de alimentos para reducción de peso, y para pacientes con diabetes. Se absorben poco y tienen alrededor de la mitad del rendimiento de energía de los azúcares.

2. Los **disacáridos** son productos de condensación de dos unidades de monosacárido; los ejemplos son lactosa, maltosa, sacarosa y trehalosa.

3. Los **oligosacáridos** son productos de condensación de 3 a 10 monosacáridos. Casi ninguno es digerido por las enzimas del ser humano.

4. Los **polisacáridos** son productos de condensación de más de 10 unidades de monosacáridos; los ejemplos son los almidones y las dextrinas, que pueden ser polímeros lineales o ramificados. Los polisacáridos a veces se clasifican como hexosanos o pentosanos, dependiendo de la identidad de los monosacáridos que los constituyen (hexosas y pentosas, respectivamente). Además de almidones y dextrinas, los alimentos contienen una amplia variedad de otros polisacáridos que se conocen en conjunto como polisacáridos no almidón; las enzimas de ser humano no los digieren, y son el principal componente de la fibra en la dieta. Los ejemplos son celulosa (un polímero de glucosa) de paredes de células vegetales, e inulina (un polímero de fructosa), el carbohidrato de almacenamiento en algunos vegetales.

CUADRO 14–1 Clasificación de azúcares importantes

	Aldosas	Cetosas
Triosas ($C_3H_6O_3$)	Glicerosa (gliceraldehído)	Dihidroxiacetona
Tetrosas ($C_4H_8O_4$)	Eritrosa	Eritrulosa
Pentosas ($C_5H_{10}O_5$)	Ribosa	Ribulosa
Hexosas ($C_6H_{12}O_6$)	Glucosa	Fructosa
Heptosas ($C_7H_{14}O_7$)	—	Sedoheptulosa

DESDE EL PUNTO DE VISTA BIOMÉDICO, LA GLUCOSA ES EL MONOSACÁRIDO DE MAYOR IMPORTANCIA

La estructura de la glucosa puede representarse de tres maneras

La fórmula estructural de cadena recta (aldohexosa; **figura 14-1A**) puede explicar algunas de las propiedades de la glucosa, pero una estructura cíclica (un **hemiacetal** formado por reacción entre el grupo aldehído y un grupo hidroxilo) es favorecida en el aspecto termodinámico, y explica otras propiedades. La estructura cíclica normalmente se dibuja como se muestra en la **figura 14-1B**, la proyección de Haworth, en la cual la molécula se ve desde el lado y por arriba del plano del anillo; los enlaces más cercanos al observador son marcados y engrosados, y los grupos hidroxilo están por arriba o por debajo del plano del anillo. El anillo de seis miembros que contiene un átomo de oxígeno en realidad tiene la forma de una silla (**figura 14-1C**).

A

B

C

FIGURA 14–1 **D-glucosa. A)** Forma de cadena recta. **B)** α-D-glucosa; proyección de Haworth. **C)** α-D-glucosa; forma de silla.

Los azúcares muestran diversas formas de isomerismo

La glucosa, con cuatro átomos de carbono asimétricos, puede formar 16 isómeros. Los tipos de isomerismo de mayor importancia encontrados con la glucosa son:

1. Isomerismo D y L. La designación de un isómero de azúcar como la forma D o su imagen en espejo como la forma L está determinada por su relación espacial con el compuesto original de los carbohidratos, el azúcar de tres carbonos glicerosa (gliceraldehído). En la **figura 14-2** se muestran las formas L y D de este azúcar, y de la glucosa. La orientación de los grupos —H y —OH alrededor del átomo de carbono adyacente al carbono alcohol primario terminal (carbón 5 en la glucosa) determina si el azúcar pertenece a la serie D o L. Cuando el grupo —OH en dicho carbono está a la derecha (figura 14-2), el azúcar es el isómero D; cuando está a la izquierda, es el isómero L. Casi todos los monosacáridos que se encuentran en mamíferos son azúcares D, y las enzimas de las cuales depende su metabolismo son específicas para esta configuración.

La presencia de átomos de carbono asimétricos también confiere **actividad óptica** al compuesto. Cuando un haz de luz polarizada por plano se hace pasar a través de una solución de un **isómero óptico**, rota hacia la derecha (es dextrorrotatorio [+]), o hacia la izquierda (es levorrotatorio [−]). La dirección de rotación de luz polarizada es independiente de la estereoquímica del azúcar, de modo que puede designarse D(−), D(+), L(−) o L(+); por ejemplo, la forma de fructosa que existe de manera natural es el isómero D(−). En solución, la glucosa es dextrorrotatoria, y las soluciones de glucosa a veces se conocen como **dextrosa**.

2. Estructuras en anillo piranosa y furanosa. Las estructuras en anillo de monosacáridos son similares a las estructuras en

L-Glicerosa (L-gliceraldehído)

D-Glicerosa (D-gliceraldehído)

L-Glucosa

D-Glucosa

FIGURA 14–2 **D- y L-isomerismo de glicerosa y glucosa.**

Pirano Furano

α-D-Glucopiranosa α-D-Glucofuranosa

FIGURA 14–3 **Formas piranosa y furanosa de la glucosa.**

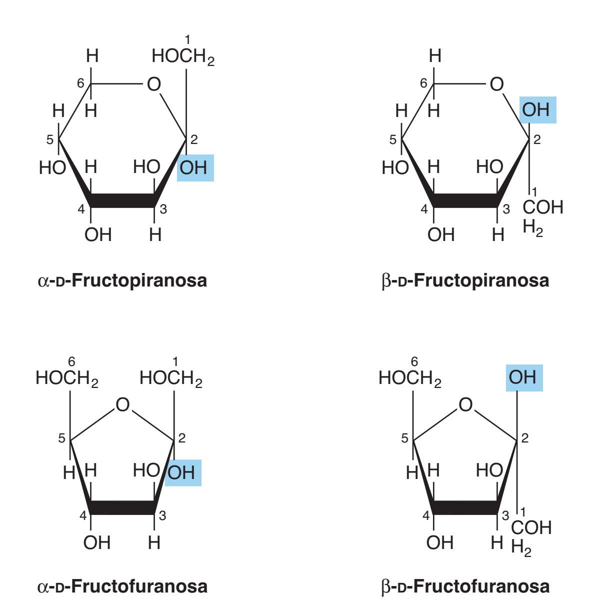


FIGURA 14–4 **Formas piranosa y furanosa de la fructosa.**

anillo de pirano (un anillo de seis miembros) o furano (un anillo de cinco miembros) (**figuras 14-3** y **14-4**). Para la glucosa en solución, más de 99% está en la forma de piranosa.

3. Anómeros α y β. La estructura en anillo de una aldosa es hemiacetal, porque se forma por combinación de un grupo aldehído y un alcohol. De modo similar, la estructura en anillo de una cetosa es un hemicetal. La glucosa cristalina es α-D-glucopiranosa. La estructura cíclica se retiene en solución, pero ocurre isomerismo alrededor de la posición 1, el carbonilo o **átomo de carbono anomérico**, para dar una mezcla de α-glucopiranosa (38%) y β-glucopiranosa (62%). Menos de 0.3% está representado por anómeros α y β de glucofuranosa.

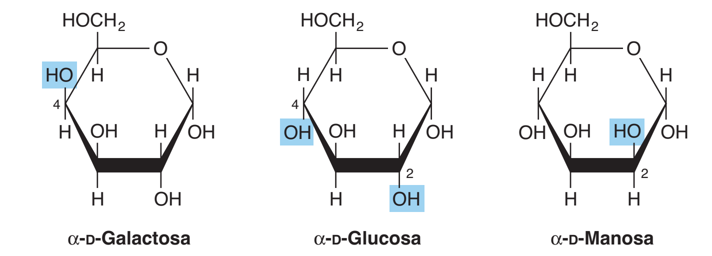


FIGURA 14–5 **Epímeros de la glucosa.**

4. Epímeros. Los isómeros que difieren como resultado de variaciones de configuración del —OH y —H en los átomos de carbono 2, 3 y 4 de la glucosa, se conocen como epímeros. Desde el punto de vista biológico, los epímeros de mayor importancia de la glucosa son manosa (epimerizada en el carbono 2) y galactosa (epimerizada en el carbono 4) (**figura 14-5**).

5. Isomerismo de aldosa-cetosa. La fructosa tiene la misma fórmula molecular que la glucosa, pero difieren en su estructura, porque hay un grupo ceto potencial en la posición 2, el carbono anomérico de la fructosa (**figuras 14-4** y **14-6**), mientras que hay un grupo aldehído potencial en la posición 1, el carbono anomérico de la glucosa (**figuras 14-2** y **14-7**).

Muchos monosacáridos son importantes en el aspecto fisiológico

Los derivados de triosas, tetrosas y pentosas, y de un azúcar de siete carbonos (sedoheptulosa) se forman como intermediarios metabólicos en la glucólisis (cap. 18) y la vía de la pentosa fosfato (cap. 21). Las pentosas son importantes en nucleótidos, ácidos nucleicos y varias coenzimas (**cuadro 14-2**). La glucosa, galactosa, fructosa y manosa son las hexosas de mayor importancia fisiológica (**cuadro 14-3**). Las cetosas importantes desde el punto de vista bioquímico se muestran en la figura 14-6, y las aldosas, en la figura 14-7.

Además, los derivados de la glucosa, del ácido carboxílico, son importantes, entre ellos el D-glucuronato (para la formación de glucurónido y en glucosaminoglucanos) y su derivado

D-Glicerosa (D-gliceraldehído) D-Eritrosa D-Lixosa D-Xilosa D-Arabinosa D-Ribosa D-Galactosa D-Manosa D-Glucosa

FIGURA 14–6 **Ejemplos de aldosas de importancia fisiológica.**

Dihidroxiacetona D-Xilulosa D-Ribulosa D-Fructosa D-Sedoheptulosa

FIGURA 14–7 Ejemplos de cetosas de importancia fisiológica.

metabólico, L-iduronato (en glucosaminoglucanos) (**figura 14-8**) y L-gulonato (un intermediario de la vía del ácido urónico; figura 21-4).

Los azúcares forman glucósidos con otros compuestos y entre sí

Los **glucósidos** se forman por condensación entre el grupo hidroxilo del carbono anomérico de un monosacárido, y un segundo compuesto que puede o no (en el caso de una **aglicona**) ser otro monosacárido. Si el segundo grupo es un hidroxilo, el enlace *O*-glucosídico es un enlace **acetal** porque se produce por una reacción entre un grupo hemiacetal (formado a partir de un aldehído y un grupo —OH) y otro grupo —OH. Si la porción hemiacetal es glucosa, el compuesto resultante es un **glucósido**; si es galactosa, un **galactósido**, y así sucesivamente. Si el segundo grupo es una amina, se forma un enlace *N*-glucosídico, por ejemplo, entre adenina y ribosa en nucleótidos como ATP (figura 11-4).

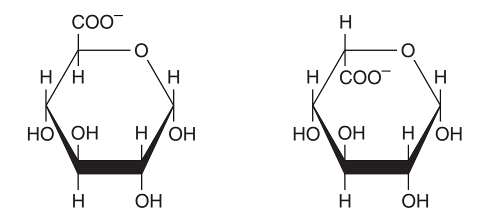


FIGURA 14–8 α-D-Glucuronato (*izquierda*) y β-L-iduronato (*derecha*).

CUADRO 14–2 Pentosas de importancia fisiológica

Azúcar	Fuente	Importancia bioquímica y clínica
D-Ribosa	Ácidos nucleicos e intermediario metabólico	Componente estructural de ácidos nucleicos y coenzimas, incluso ATP, NAD(P) y coenzimas flavina
D-Ribulosa	Intermediario metabólico	Intermediario en la vía de la pentosa fosfato
D-Arabinosa	Gomas vegetales	Constituyente de glucoproteínas
D-Xilosa	Gomas vegetales, proteoglucanos, glucosaminoglucanos	Constituyente de glucoproteínas
L-Xilulosa	Intermediario metabólico	Se excreta en la orina en la pentosuria esencial

CUADRO 14–3 Hexosas de importancia fisiológica

Azúcar	Fuente	Importancia bioquímica	Importancia clínica
D-Glucosa	Jugos de frutas, hidrólisis del almidón, azúcar de caña o de remolacha (betabel), maltosa y lactosa	El principal combustible metabólico para los tejidos; "azúcar de la sangre"	Se excreta en la orina (glucosuria) en la diabetes mellitus mal controlada, como resultado de hiperglucemia
D-Fructosa	Jugos de frutas, miel, hidrólisis de azúcar de caña o de remolacha e inulina, isomerización enzimática de jarabe de glucosa para la manufactura de alimentos	Se metaboliza fácilmente por medio de la glucosa o de manera directa	La intolerancia hereditaria a la fructosa lleva a acumulación de fructosa e hipoglucemia
D-Galactosa	Hidrólisis de lactosa	Se metaboliza fácilmente a glucosa; se sintetiza en la glándula mamaria para la síntesis de lactosa en la leche. Un constituyente de glucolípidos y glucoproteínas	La galactosemia hereditaria como resultado de fracaso para metabolizar galactosa lleva a cataratas
D-Manosa	Hidrólisis de gomas manano vegetales	Constituyente de glucoproteínas	

FIGURA 14–9 **2-Desoxi-D-ribofuranosa (forma β).**

Los glucósidos están ampliamente distribuidos en la Naturaleza; la aglicona puede ser metanol, glicerol, un esterol, un fenol, o una base como adenina. Los glucósidos importantes en medicina debido a su acción sobre el corazón (**glucósidos cardiacos**) contienen esteroides como la aglicona. Éstos incluyen derivados de la digital y del estrofanto, como **ouabaína**, un inhibidor de la Na^+-K^+-ATPasa de las membranas celulares. Otros glucósidos comprenden antibióticos como la **estreptomicina**.

Los azúcares desoxi carecen de un átomo de oxígeno

Los azúcares desoxi son aquellos en los cuales un grupo hidroxilo ha quedado remplazado por hidrógeno. Un ejemplo es la **desoxirribosa** (**figura 14-9**) en el DNA. El azúcar desoxi L-fucosa (figura 14-13) existe en glucoproteínas; la 2-desoxiglucosa se usa de forma experimental como un inhibidor del metabolismo de la glucosa.

Los azúcares amino (hexosaminas) son componentes de glucoproteínas, gangliósidos y glucosaminoglucanos

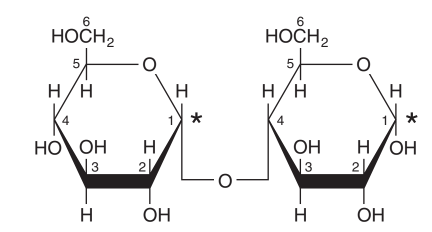
Los azúcares amino incluyen D-glucosamina, un constituyente del ácido hialurónico (**figura 14-10**), D-galactosamina (también conocida como condrosamina), un constituyente de la condroitina y la D-manosamina. Varios **antibióticos** (p. ej., **eritromicina**) contienen azúcares amino, que son importantes para su actividad antibiótica.

La maltosa, sacarosa y lactosa son disacáridos importantes

Los disacáridos son azúcares compuestos de dos residuos monosacárido unidos por un enlace glucósido (**figura 14-11**). Los disacáridos importantes en el aspecto fisiológico son maltosa, sacarosa y lactosa (**cuadro 14-4**). La hidrólisis de la sacarosa da una mezcla de glucosa y fructosa denominada "azúcar invertido" porque la fructosa es fuertemente levorrotatoria y cambia (invierte) la acción dextrorrotatoria más débil de la sacarosa.

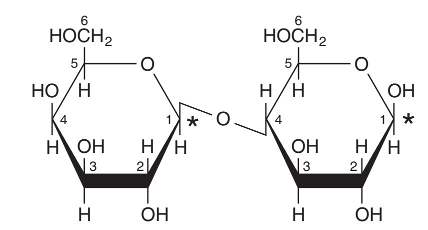
FIGURA 14–10 **Glucosamina (2-amino-D-glucopiranosa) (forma α).** La galactosamina es una 2-amino-D-galactopiranosa. Tanto la glucosamina como la galactosamina existen como derivados *N*-acetilo en carbohidratos más complejos, por ejemplo, glucoproteínas.

Maltosa



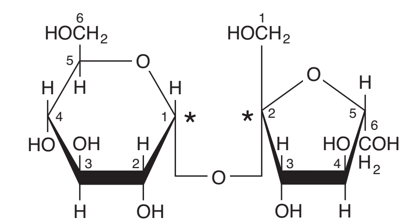
O-α-D-Glucopiranosil-(1 → 4)-α-D-glucopiranosa

Lactosa



O-β-D-Galactopiranosil-(1 → 4)-β-D-glucopiranosa

Sacarosa



O-α-D-Glucopiranosil-(1 → 2)-β-D-fructofuranósido

FIGURA 14–11 **Estructuras de disacáridos importantes.** La α y la β se refieren a la configuración del átomo de carbono anomérico (*). Cuando el carbono anomérico del segundo residuo participa en la formación de enlace glucosídico, como en la sacarosa, el residuo se convierte en un glucósido conocido como un furanósido o un piranósido. Dado que el disacárido ya no tiene un carbono anomérico con un grupo aldehído o cetona potencial libre, ya no muestra propiedades reductoras. La configuración del residuo β-fructofuranosa en la sacarosa se origina por giro de 180° e inversión de la molécula de β-fructofuranosa presentada en la figura 14-4.

LOS POLISACÁRIDOS DESEMPEÑAN FUNCIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTRUCTURALES

Los polisacáridos comprenden los siguientes carbohidratos de importancia fisiológica:

El **almidón** es un homopolímero de glucosa que forma una cadena α-glucosídica, llamada **glucosano** o **glucano**. Es el

CUADRO 14–4 Disacáridos de importancia fisiológica

Azúcar	Composición	Fuente	Importancia clínica
Sacarosa	*O*-α-D-glucopiranosil-(1→2)-β-D-fructofuranosida	Azúcar de caña y de remolacha (betabel), sorgo y algunas frutas y verduras	La falta de sacarasa es de origen genético y lleva a intolerancia a la sacarosa: diarrea y flatulencia
Lactosa	*O*-α-D-galactopiranosil-(1→4)-β-D-glucopiranosa	Leche (y muchas preparaciones farmacéuticas como relleno)	La falta de lactasa (alactasia) lleva a intolerancia a la lactosa: diarrea y flatulencia; puede excretarse en la orina durante el embarazo
Maltosa	*O*-α-D-glucopiranosil-(1→4)-α-D-glucopiranosa	Hidrólisis enzimática del almidón (amilasa); cereales germinados y malta	
Isomaltosa	*O*-α-D-glucopiranosil-(1→6)-α-D-glucopiranosa	Hidrólisis enzimática del almidón (los puntos de ramificación en la amilopectina)	
Lactulosa	*O*-α-D-galactopiranosil-(1→4)-β-D-fructofuranosa	Leche calentada (cantidades pequeñas), principalmente sintética	No es hidrolizada por enzimas intestinales, pero es fermentada por bacterias intestinales; se usa como un laxante osmótico suave
Trehalosa	*O*-α-D-glucopiranosil-(1→1)-α-D-glucopiranosida	Levaduras y hongos; el principal azúcar de la endolinfa de insectos	

carbohidrato más importante de la dieta en cereales, papas (patatas), legumbres y otras verduras. Los dos constituyentes principales son **amilosa** (13 a 20%), que tiene una estructura helicoidal no ramificada, y **amilopectina** (80 a 87%), que consta de cadenas ramificadas compuestas de 24 a 30 residuos de glucosa con enlaces α1 → 4 en las cadenas, y por enlaces α1 → 6 en los puntos de ramificación (**figura 14-12**).

El grado al cual la amilasa hidroliza el almidón en los alimentos está determinado por su estructura, el nivel de cristalización o hidratación (el resultado de la cocción), y por el hecho de si está encerrado en paredes de células vegetales intactas (e indigeribles). El **índice glucémico** de un alimento feculento es una medida de su digestibilidad, con base en el grado al cual aumenta la concentración de glucosa en sangre en comparación con una cantidad equivalente de glucosa o un alimento de referencia, como pan blanco o arroz hervido. El índice glucémico varía desde 1 (o 100%) para almidones que son fácilmente hidrolizados en el intestino delgado, hasta 0 para los que no son hidrolizados en absoluto.

El **glucógeno** (**figura 14-13**) es el polisacárido de almacenamiento en animales, y a veces se llama almidón animal. Es una estructura más ramificada que la amilopectina con cadenas de residuos 12-14 α-D-glucopiranosa (en enlace α1 → 4 glucosídico) con ramificación mediante enlaces α1 → 6 glucosídicos. Los gránulos de glucógeno musculares (partículas β) son esféricos y contienen hasta 60 000 residuos de glucosa; en el hígado hay gránulos similares, y rosetas de gránulos de glucógeno que parecen ser partículas β agregadas.

La **inulina** es un polisacárido de la fructosa (y, en consecuencia, un fructosano) que se encuentra en tubérculos y raíces de dalias, alcachofas y dientes de león. Es fácilmente soluble en agua y se usa para determinar el índice de filtración glomerular, pero las enzimas intestinales no la hidrolizan. Las **dextrinas** son intermediarios en la hidrólisis del almidón. La **celulosa** es el principal constituyente de las paredes de las células vegetales. Es insoluble y consta de unidades de β-D-glucopiranosa unidas por enlaces β1 → 4 para formar cadenas largas y rectas fortalecidas por enlaces de hidrógeno que se entrecruzan. Los mamíferos carecen de enzimas que hidrolicen los enlaces β1 → 4; de esta manera, no pueden digerir la celulosa. Es una fuente importante de "volumen" en la dieta, y el principal componente de la fibra de la misma. Los microorganismos que se encuentran en el in-

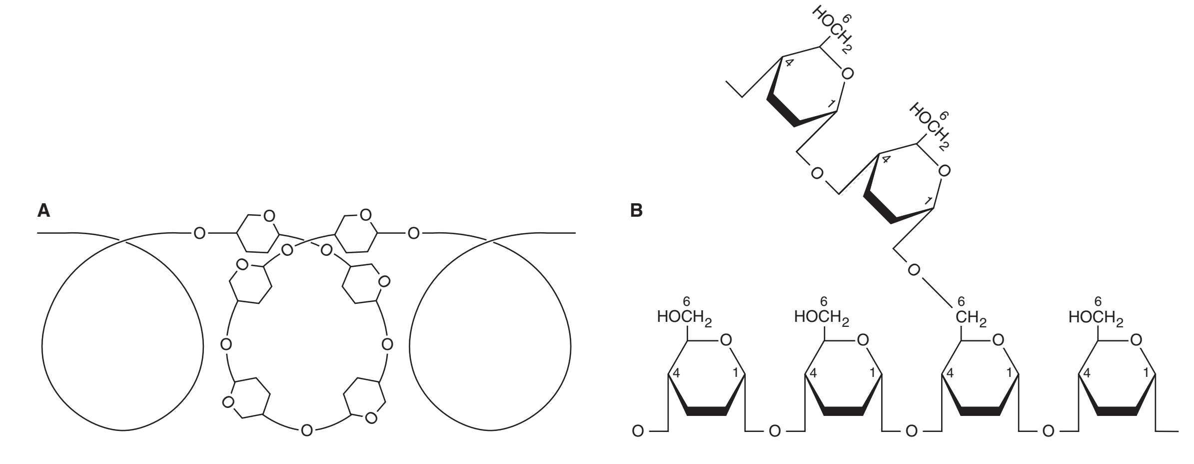


FIGURA 14–12 Estructura del almidón. A) Amilosa, que muestra estructura en espiral helicoidal. **B)** Amilopectina, que muestra punto de ramificación 1 → 6.

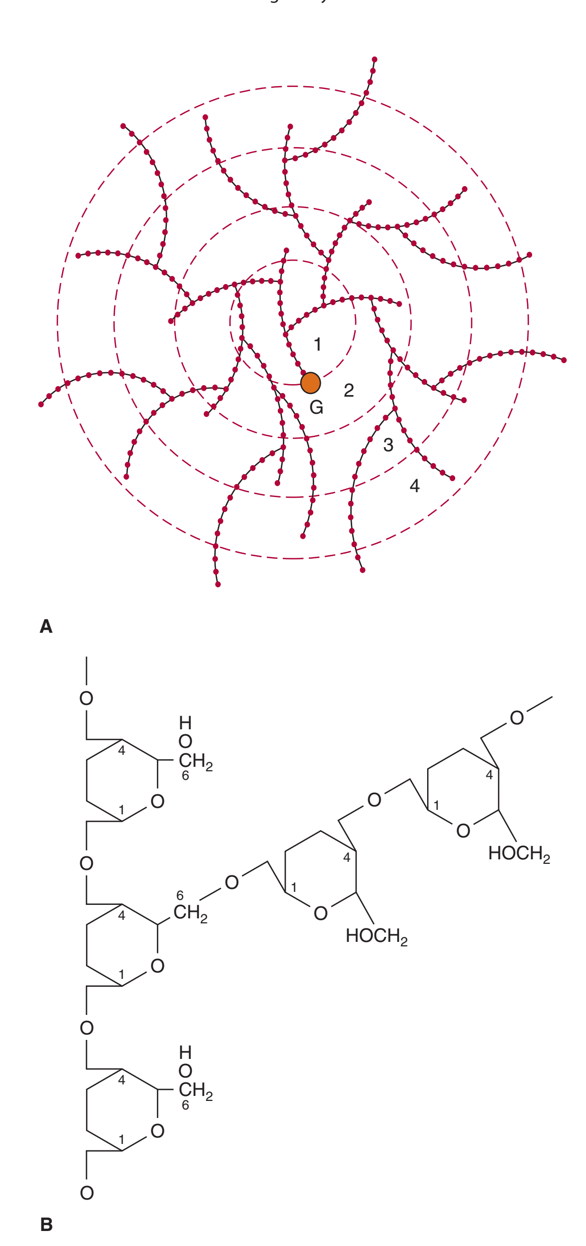


FIGURA 14–13 La molécula de glucógeno. A) Estructura general. **B)** Agrandamiento de la estructura en un punto de ramificación. La molécula es una esfera de ~21 nm de diámetro que puede observarse en micrografías electrónicas. Tiene una masa molecular de ~10^7 Da y consta de cadenas de polisacárido, cada una de las cuales contiene alrededor de 13 residuos glucosa. Las cadenas son ramificadas o no ramificadas, y están dispuestas en 12 capas concéntricas (en la figura sólo se muestran cuatro). Las cadenas ramificadas (cada una de las cuales tiene dos ramas) se encuentran en las capas internas, y las cadenas no ramificadas, en la capa externa. (G, glucogenina, la molécula preparadora para la síntesis de glucógeno.)

testino de rumiantes y otros herbívoros pueden hidrolizar el enlace y fermentar los productos hacia ácidos grasos de cadena corta como una importante fuente de energía. Hay cierto metabolismo bacteriano de celulosa en el colon de seres humanos. La **quitina** es un polisacárido estructural en el exoesqueleto de crustáceos e insectos, y en hongos. Consta de unidades de *N*-acetil-D-glucosamina unidas por enlaces $\beta 1 \rightarrow 4$ glucosídicos (**figura 14-14**).

Los **glucosaminoglucanos** (mucopolisacáridos) son carbohidratos complejos que contienen **azúcares amino** y **ácidos urónicos**. Pueden estar fijos a una molécula de proteína, lo que forma un **proteoglucano**. Los proteoglucanos proporcionan la sustancia fundamental o de relleno del tejido conjuntivo. Sostienen grandes cantidades de agua y ocupan espacio, lo que amortigua o lubrica otras estructuras, debido al gran número de grupos —OH y cargas negativas en la molécula que, por repulsión, mantienen separadas las cadenas de carbohidrato. Los ejemplos son el **ácido hialurónico**, el **condroitín sulfato** y la **heparina** (figura 14-14).

Quitina

N-Acetilglucosamina — *N*-Acetilglucosamina

Ácido hialurónico

Ácido β-glucurónico — *N*-Acetilglucosamina

Condroitín 4-sulfato
(Nota: también hay 6-sulfato)

Ácido β-glucurónico — Sulfato de *N*-acetilgalactosamina

Heparina

Glucosamina sulfatada — Ácido idurónico sulfatado

FIGURA 14–14 Estructura de algunos polisacáridos y glucosaminoglucanos complejos.

CUADRO 14–5 Carbohidratos que se encuentran en glucoproteínas

Hexosas	Manosa (Man), galactosa (Gal)
Acetil hexosaminas	*N*-Acetilglucosamina (GlcNAc), *N*-acetil galactosamina (GalNAc)
Pentosas	Arabinosa (Ara), xilosa (Xil)
Metil pentosa	L-Fucosa (Fuc, fig. 14-15)
Ácidos siálicos	Derivados *N*-acilo del ácido neuramínico; el ácido siálico predominante es ácido *N*-acetilneuramínico (NeuAc, fig.14-16)

Las **glucoproteínas** (también conocidas como mucoproteínas) son proteínas que contienen cadenas de oligosacárido ramificadas o no ramificadas (**cuadro 14-5, figura 14-15**); se encuentran en membranas celulares (caps. 40 y 47) y en muchas otras situaciones; la albúmina sérica es una glucoproteína. Los **ácidos siálicos** son derivados *N*- u *O*-acilo del **ácido neuramínico** (**figura 14-16**); este último es un azúcar de nueve carbonos derivado de la manosamina (un epímero de la glucosamina) y el piruvato. Los ácidos siálicos son constituyentes tanto de **glucoproteínas** como de **gangliósidos**.

LOS CARBOHIDRATOS SE ENCUENTRAN EN MEMBRANAS CELULARES Y EN LIPOPROTEÍNAS

Alrededor de 5% del peso de las membranas celulares es carbohidrato en glucoproteínas y glucolípidos. Su presencia sobre la superficie externa de la membrana plasmática (el **glucocálix**) se ha mostrado con el uso de **lectinas** vegetales, aglutininas proteínicas que unen residuos glucosilo específicos. Por ejemplo, la **concanavalina A** une residuos α-glucosilo y α-manosilo. La **glucoforina** es una importante glucoproteína de membrana integral de los eritrocitos del ser humano. Tiene 130 residuos aminoácido y abarca la membrana lipídica, con regiones polipeptídicas fuera de las superficies tanto externa como interna (citoplásmica). Las cadenas de carbohidrato están fijas a la porción amino terminal fuera de la superficie externa. Los carbohidratos también están presentes en apo-proteína B de lipoproteínas plasmáticas.

H
O
H
CH_3
H
HO
H
HO
OH
OH
H

FIGURA 14–15 **β-L-Fucosa (6-desoxi-β-L-galactosa).**

H
O
Ac — NH
CHOH
COO—
CHOH
CH_2OH
H
H
H
OH
OH
H

FIGURA 14–16 **Estructura del ácido *N*-acetilneuramínico, un ácido siálico (Ac = CH_3—CO—).**

RESUMEN

- Los carbohidratos son constituyentes importantes del alimento de los animales y del tejido de éstos. Se caracterizan por el tipo y número de residuos monosacárido en sus moléculas.
- La glucosa es el carbohidrato de mayor importancia en la bioquímica de mamíferos, porque casi todo el carbohidrato en los alimentos se convierte en glucosa para el metabolismo.
- Los azúcares tienen grandes números de estereoisómeros porque contienen varios átomos de carbono asimétricos.
- Los monosacáridos de mayor importancia fisiológica son la glucosa, el "azúcar de la sangre" y la ribosa, un importante constituyente de nucleótidos y ácidos nucleicos.
- Los disacáridos importantes son maltosa (glucosil glucosa), un intermediario en la digestión del almidón; la sacarosa (glucosil fructosa), importante como un constituyente de la dieta, que contiene fructosa, y la lactosa (galactosil glucosa), en la leche.
- El almidón y el glucógeno son polímeros de glucosa de almacenamiento en vegetales y animales, respectivamente. El almidón es la principal fuente de energía en la dieta.
- Los carbohidratos complejos contienen otros derivados de azúcar como azúcares amino, ácidos urónicos y ácidos siálicos. Incluyen proteoglucanos y glucosaminoglucanos, que se relacionan con elementos estructurales de los tejidos, y glucoproteínas, que son proteínas que contienen cadenas de oligosacárido; se encuentran en muchas situaciones, incluso en la membrana celular.

REFERENCIAS

Champ M, Langkilde A-M, Brouns F, et al: Advances in dietary fibre characterisation. Nutrition Res Rev 2003;16:(1)71–82.

Davis BG, Fairbanks AJ: *Carbohydrate Chemistry.* Oxford University Press, 2002.

Kiessling LL, Splain RA: Chemical approaches to glycobiology. Ann Rev Biochem 2010;79:619–53.

Lindhorst TK, Thisbe K: *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry,* 3rd ed. Wiley-VCH, 2007.

Sinnott M: *Carbohydrate Chemistry and Biochemistry: Structure and Mechanisms,* Royal Society of Chemistry, 2007.

CAPÍTULO

15

Lípidos de importancia fisiológica

Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Definir los lípidos simples y complejos, e identificar las clases de lípidos en cada grupo.
- Indicar la estructura de ácidos grasos saturados e insaturados, explicar cómo la longitud y el grado de insaturación de la cadena influyen sobre su punto de fusión, dar ejemplos, y explicar la nomenclatura.
- Entender la diferencia entre los dobles enlaces carbono-carbono *cis* y *trans*.
- Describir cómo los eicosanoides se forman por modificación de la estructura de ácidos grasos insaturados; identificar las diversas clases de eicosanoides, e indicar sus funciones.
- Describir la estructura general de triacilgliceroles, e indicar su función.
- Describir la estructura general de los fosfolípidos y glucoesfingolípidos, e indicar las funciones de las diferentes clases.
- Apreciar la importancia del colesterol como el precursor de muchos esteroides de importancia biológica, entre ellos hormonas esteroides, ácidos biliares y vitaminas D.
- Reconocer el núcleo cíclico común a todos los esteroides, y explicar la diferencia entre las formas "silla" y "bote" de los anillos de seis carbonos, y que los anillos pueden ser *cis* o *trans* en relación uno con otro, lo que hace que sean posibles muchos estereoisómeros.
- Explicar por qué los radicales libres son perjudiciales para los tejidos, e identificar las tres etapas en la reacción en cadena de peroxidación lipídica que los produce de manera continua.
- Entender cómo los antioxidantes protegen los lípidos contra peroxidación por la iniciación de la cadena o inducir el rompimiento de la misma, y dar ejemplos fisiológicos y no fisiológicos.
- Entender que muchas moléculas lipídicas son anfipáticas, que tienen grupos tanto hidrofóbicos como hidrofílicos en su estructura, y explicar cómo esto influye sobre su comportamiento en un ambiente acuoso y permite que ciertas clases, incluyendo fosfolípidos, esfingolípidos y colesterol, formen la estructura básica de las membranas biológicas.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los lípidos son un grupo de compuestos heterogéneo, que incluye grasas, aceites, esteroides, ceras y compuestos relacionados más por sus propiedades físicas que por sus propiedades químicas. Tienen la propiedad común de ser: 1) relativamente **insolubles en agua** y 2) **solubles en solventes no polares**, como éter y cloroformo. Son importantes constituyentes de la dieta no sólo debido a su alto valor energético, sino también debido a las **vitaminas liposolubles** y los **ácidos grasos esenciales** contenidos en la grasa de alimentos naturales. La grasa se almacena en el **tejido adiposo**, donde también sirve como un aislador térmico de los tejidos subcutáneos y alrededor de ciertos órganos. Los lípidos no polares actúan como **aislantes eléctricos**, lo que permite la propagación rápida de las ondas de despolarización a lo largo de **nervios mielinizados**. Las combinaciones de lípido y proteína (lipoproteínas) sirven como el medio para **transportar lípidos** en la sangre. Los lípidos tienen funciones esenciales en la nutrición y la salud, y el conocimiento de la bioquímica de los lípidos es necesario para entender muchas enfermedades biomédicas

importantes, entre ellas **obesidad**, **diabetes mellitus** y **aterosclerosis**.

LOS LÍPIDOS SE CLASIFICAN COMO SIMPLES O COMPLEJOS

1. Lípidos simples: ésteres de ácidos grasos con diversos alcoholes.
   a. **Grasas:** ésteres de ácidos grasos con glicerol. Los **aceites** son grasas en el estado líquido.
   b. **Ceras:** ésteres de ácidos grasos con alcoholes monohídricos de masa molecular relativa (peso molecular) más alta.
2. **Lípidos complejos:** ésteres de ácidos grasos que contienen grupos además de un alcohol y un ácido graso.
   a. **Fosfolípidos:** lípidos que contienen, además de ácidos grasos y un alcohol, un residuo ácido fosfórico. A menudo poseen bases que contienen nitrógeno y otros sustituyentes, por ejemplo, en los **glicerofosfolípidos** el alcohol es glicerol, y en los **esfingofosfolípidos** el alcohol es la esfingosina.
   b. **Glucolípidos (glucoesfingolípidos):** lípidos que contienen un ácido graso, esfingosina y carbohidrato.
   c. **Otros lípidos complejos:** lípidos como sulfolípidos y aminolípidos. Las lipoproteínas también pueden colocarse en esta categoría.
3. **Lípidos precursores y derivados:** comprenden ácidos grasos, glicerol, esteroides, otros alcoholes, aldehídos grasos, cuerpos cetónicos (cap. 22), hidrocarburos, vitaminas liposolubles y hormonas.

Dado que no tienen carga, los acilgliceroles (glicéridos), el colesterol y los colesteril ésteres se llaman **lípidos neutrales**.

LOS ÁCIDOS GRASOS SON ÁCIDOS CARBOXÍLICOS ALIFÁTICOS

Los ácidos grasos se encuentran en el cuerpo principalmente como ésteres en grasas y aceites naturales, pero existen en la forma no esterificada como **ácidos grasos libres**, una forma de transporte en el plasma. Los ácidos grasos que se hallan en grasas naturales por lo general contienen un número par de átomos de carbono. La cadena puede ser **saturada** (que no contiene dobles enlaces) o **insaturada** (que contiene uno o más dobles enlaces) (**figura 15-1**).

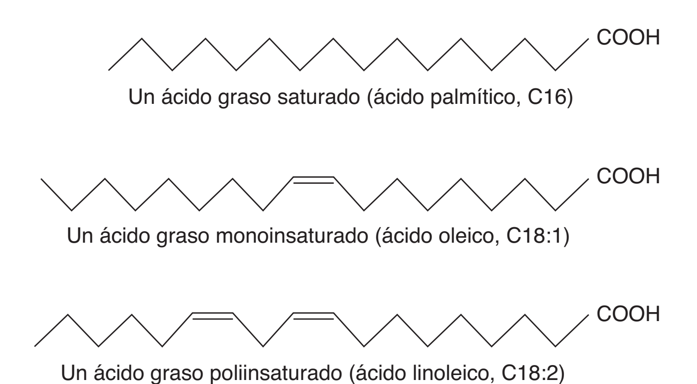


FIGURA 15–1 **Ácidos grasos.**

Los ácidos grasos se denominan con base en los hidrocarburos correspondientes

La nomenclatura sistemática de uso más frecuente denomina al ácido graso con base en el hidrocarburo con el mismo nombre y ordenamiento de átomos de carbono; la **-e** final se sustituye por -**oico** (sistema Ginebra). De este modo, los ácidos saturados terminan en -**anoico**, por ejemplo, ácido octanoico, y los ácidos grasos insaturados con dobles enlaces terminan en -**enoico**, por ejemplo, ácido octadecenoico (ácido oleico).

Los átomos de carbono se numeran desde el carbono carboxilo (carbono núm. 1). Los átomos de carbono adyacentes al carbono carboxilo (núms. 2, 3 y 4) también se conocen como los carbonos α, β y γ, respectivamente, y el carbono metilo terminal recibe el nombre de carbono ω o n.

En diversas fuentes se usa Δ para indicar el número y la posición de los dobles enlaces (**figura 15-2**); por ejemplo, Δ^9 indica un doble enlace entre los carbonos 9 y 10 del ácido graso; ω9 denota un doble enlace en el noveno carbono contando desde el carbono ω. En animales, dobles enlaces adicionales sólo se introducen entre el doble enlace existente (p. ej., ω9, ω6 u ω3) y el carbono carboxilo, lo que conduce a tres series de ácidos grasos conocidos como las familias ω9, ω6 y ω3, respectivamente.

Los ácidos grasos saturados no contienen dobles enlaces

Los ácidos grasos saturados pueden imaginarse como basados en ácido acético (CH_3—COOH) como el primer miembro de la serie en la cual se agrega de manera progresiva —CH_2— entre los grupos CH_3— y —COOH terminales. En el **cuadro 15-1** se muestran ejemplos. Se sabe que existen otros miembros más altos de la serie, sobre todo en ceras. Algunos ácidos grasos de cadena ramificada también se han aislado a partir de fuentes tanto vegetales como animales.

Los ácidos grasos insaturados contienen uno o más dobles enlaces

Los ácidos grasos insaturados (figura 15-1, **cuadro 15-2**) pueden subdividirse como sigue:

1. Ácidos **monoinsaturados** (monoetenoide, monoenoico) que contienen un doble enlace.

18:1;9 *o* Δ^9 18:1

$\overset{18}{C}H_3(CH_2)_7\overset{10}{C}H=\overset{9}{C}H(CH_2)_7\overset{1}{C}OOH$

o

ω9,C18:1 *o* *n*–9, 18:1

$\underset{n}{\overset{\omega}{C}}H_3\underset{17}{\overset{2}{C}}H_2\overset{3}{C}H_2\overset{4}{C}H_2\overset{5}{C}H_2\overset{6}{C}H_2\overset{7}{C}H_2\overset{8}{C}H_2\underset{10}{\overset{9}{C}}H=\underset{9}{\overset{10}{C}}H(CH_2)_7\underset{1}{\overset{18}{C}}OOH$

FIGURA 15–2 **Ácido oleico.** *n* – 9 (*n* menos 9) es equivalente a ω9.

CUADRO 15–1 Ácidos grasos saturados

Nombre común	Número de átomos de C	
Acético	2	Principal producto terminal de la fermentación de carbohidrato por organismos del rumen
Butírico	4	En ciertas grasas en cantidades pequeñas (en especial mantequilla). Un producto terminal de la fermentación de carbohidratos por organismos del rumen[1]
Valérico	5	
Caproico	6	
Láurico	12	Espermaceti (esperma de ballena); aceites de canela, palmiste y coco; laureles, mantequilla
Mirístico	14	Aceites de nuez moscada, palmiste y coco, mirtos, mantequilla
Palmítico	16	Común en todas las grasas de animales y vegetales
Esteárico	18	

[1] También se forma en el ciego de herbívoros y en menor grado en el colon de seres humanos.

2. Ácidos **poliinsaturados** (polietenoide, polienoico), que contienen dos o más dobles enlaces.
3. **Eicosanoides:** estos compuestos, derivados de ácidos grasos polienoicos eicosa (20 carbonos), incluyen **prostanoides**, **leucotrienos (LT)** y **lipoxinas (LX)**. Los prostanoides comprenden **prostaglandinas (PG)**, **prostaciclinas (PGI)** y **tromboxanos (TX)**.

FIGURA 15–3 **Prostaglandina E_2 (PGE_2).**

Las **prostaglandinas** existen en casi todos los tejidos de mamíferos y actúan como hormonas locales; tienen importantes actividades fisiológicas y farmacológicas. Se sintetizan *in vivo* por medio de ciclización del centro de la cadena de carbono de ácidos grasos poliinsaturados de 20 carbonos (eicosanoicos) (p. ej., ácido araquidónico) para formar un anillo ciclopentano (**figura 15-3**). Una serie relacionada de compuestos, los **tromboxanos**, tiene el anillo ciclopentano interrumpido con un átomo de oxígeno (anillo oxano) (**figura 15-4**). Tres diferentes ácidos grasos eicosanoicos dan lugar a tres grupos de eicosanoides caracterizados por el número de dobles enlaces en las cadenas laterales, por ejemplo, PG_1, PG_2 y PG_3. Diferentes grupos sustituyentes fijos a los anillos dan origen a series de prostaglandinas y tromboxanos, que se marcan como A, B, etc.; por ejemplo, el tipo "E" de prostaglandina (como en la PGE_2) tiene un grupo

CUADRO 15–2 Ácidos grasos insaturados de importancia fisiológica y nutricional

Número de átomos de C y número y posición de dobles enlaces comunes	Familia	Nombre común	Nombre sistemático	Aparición
Ácidos monoenoicos (un doble enlace)				
16:1;9	ω7	Palmitoleico	*cis*-9-Hexadecenoico	En casi todas las grasas.
18:1;9	ω9	Oleico	*cis*-9-Octadecenoico	Posiblemente el ácido graso más común en grasas naturales; particularmente alto en el aceite de oliva.
18:1;9	ω9	Elaídico	*trans*-9-Octadecenoico	Grasas hidrogenadas y de rumiantes.
Ácidos dienoicos (dos dobles enlaces)				
18:2;9,12	ω6	Linoleico	holo-*cis*-9,12-Octadecadienoico	Maíz, cacahuate o maní, semillas de algodón, frijol de soja y muchos aceites vegetales.
Ácidos trienoicos (tres dobles enlaces)				
18:3;6,9,12	ω6	γ-Linolénico	holo-*cis*-6,9,12-Octadecatrienoico	Algunos vegetales, p. ej., aceite de onagra, aceite de borraja; ácido graso menor en animales.
18:3;9,12,15	ω3	α-Linolénico	holo-*cis*-9,12,15-Octadecatrienoico	Suele encontrarse con ácido linoleico, pero se halla particularmente en el aceite de linaza.
Ácidos tetraenoicos (cuatro dobles enlaces)				
20:4;5,8,11,14	ω6	Araquidónico	holo-*cis*-5,8,11,14-Eicosatetraenoico	Se encuentra en grasas de animales; es un componente importante de fosfolípidos en animales.
Ácidos pentaenoicos (cinco dobles enlaces)				
20:5;5,8,11,14,17	ω3	Timnodónico	holo-*cis*-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoico	Componente importante de aceites de pescado, p. ej., aceites de hígado de bacalao, caballa, sábalo atlántico y salmón.
Ácidos hexaenoicos (seis dobles enlaces)				
22:6;4,7,10,13,16,19	ω3	Cervónico	holo-*cis*-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoico	Aceites de pescado, fosfolípidos en el cerebro.

FIGURA 15–4 **Tromboxano A_2 (TXA_2).**

ceto en la posición 9, mientras que el tipo "F" tiene un grupo hidroxilo en esta posición. Los **leucotrienos** y las **lipoxinas** (**figura 15-5**) son un tercer grupo de derivados eicosanoides formados mediante la vía de la lipooxigenasa (figura 23-11). Se caracterizan por la presencia de 3 o 4 dobles enlaces conjugados, respectivamente. Los leucotrienos causan broncoconstricción; son potentes agentes proinflamatorios y están implicados en el **asma**.

Casi todos los ácidos grasos insaturados naturales tienen dobles enlaces *cis*

Las cadenas de carbono de ácidos grasos saturados forman un modelo en zigzag cuando se extienden a temperaturas bajas (figura 15-1). A temperaturas más altas, algunos enlaces rotan, lo que da por resultado acortamiento de la cadena; ello explica por qué las biomembranas se hacen más delgadas con los aumentos de la temperatura. En los ácidos grasos insaturados se observa un tipo de **isomerismo geométrico**, según la orientación de átomos o grupos alrededor de los ejes de dobles enlaces, que impiden la rotación. Si las cadenas acilo están en el mismo lado del enlace, es *cis*-, como en el ácido oleico; si están en lados opuestos, es *trans*-, como en el ácido elaídico, el isómero *trans* del ácido oleico (**figura 15-6**). Casi todos los dobles enlaces en ácidos grasos de cadena larga insaturados presentes de manera natural están en la configuración *cis*; las moléculas están "dobladas" 120 grados en el doble enlace. De este modo, el ácido oleico tiene una forma de L, mientras que el ácido elaídico permanece "recto". El incremento del número de dobles enlaces *cis* en un ácido graso da pie a diversas posibles configuraciones espaciales de la molécula; p. ej., el ácido araquidónico, con cuatro dobles enlaces *cis*, está doblado en forma de U (**figura 15-7**). Esto tiene profunda importancia para el empaque molecular en membranas celulares y sobre las posiciones ocupadas por ácidos grasos en moléculas más complejas, como los fosfolípidos. Los dobles enlaces *trans* alteran estas relaciones espaciales. Los **ácidos grasos *trans*** están presentes en ciertos alimentos, y surgen como un subproducto de la saturación de ácidos grasos durante hidrogenación, o "endurecimiento" de aceites naturales en la manufactura de margarina. Una pequeña contribución adicional proviene de la ingestión de grasa de rumiante que contiene ácidos grasos *trans*, que surgen a partir de la acción de microorganismos en el rumen. Ahora se sabe que el consumo de ácidos grasos *trans* es nocivo para la salud, y se relaciona con aumento del riesgo de enfermedades, entre ellas enfermedad cardiovascular y diabetes mellitus. Esto ha llevado a desarrollar tecnología mejorada para producir margarina blanda con contenido bajo o nulo de ácidos grasos *trans*.

FIGURA 15–5 **Leucotrieno A_4 (LTA_4).**

FIGURA 15–6 **Isomerismo geométrico de Δ^9, ácidos grasos 18:1 (ácidos oleico y elaídico).**

Las propiedades físicas y fisiológicas de ácidos grasos reflejan la longitud de la cadena y el grado de insaturación

Los puntos de fusión de ácidos grasos de carbono con un número par se incrementan con la longitud de la cadena y disminuyen de acuerdo con la insaturación. Un triacilglicerol que contiene tres ácidos grasos saturados de 12 carbonos o más es sólido a la temperatura corporal, mientras que si los residuos ácido graso son 18:2, es líquido hasta por debajo de 0°C. En la práctica, los acilgliceroles naturales contienen una mezcla de ácidos grasos adaptados para que satisfagan sus papeles funcionales. Los lípidos de membrana, que deben ser líquidos a todas las temperaturas ambientales, están más insaturados que los lípidos de almacenamiento. Los lípidos en los tejidos que están sujetos a enfriamiento, por ejemplo, en hibernadores o en las extremidades de animales, están más insaturados.

FIGURA 15–7 **Ácido araquidónico.**

FIGURA 15–8 Triacilglicerol.

LOS TRIACILGLICEROLES (TRIGLICÉRIDOS)* SON LAS PRINCIPALES FORMAS DE ALMACENAMIENTO DE ÁCIDOS GRASOS

Los triacilgliceroles (**figura 15-8**) son ésteres del alcohol trihídrico glicerol y ácidos grasos. Los monoacilgliceroles y los diacilgliceroles, en los cuales uno o dos ácidos grasos están esterificados con glicerol, también se encuentran en los tejidos. Estos últimos tienen particular importancia en la síntesis e hidrólisis de triacilgliceroles.

Los carbonos 1 y 3 del glicerol no son idénticos

A fin de numerar los átomos de carbono del glicerol de manera no ambigua, se usa el sistema *-sn* (numeración estereoquímica). Tiene importancia percatarse de que los carbonos 1 y 3 del glicerol no son idénticos cuando se observan en tres dimensiones (que se muestran como una fórmula de proyección en la **figura 15-9**). Las enzimas distinguen con facilidad entre ellos, y casi siempre son específicas para un carbono o para el otro; por ejemplo, el glicerol siempre es fosforilado en *sn*-3 por la glicerol cinasa para dar glicerol 3-fosfato y no glicerol 1-fosfato.

LOS FOSFOLÍPIDOS SON LOS PRINCIPALES CONSTITUYENTES LIPÍDICOS DE MEMBRANAS

Los fosfolípidos pueden considerarse derivados del **ácido fosfatídico** (**figura 15-10**), en el cual el fosfato está esterificado con el —OH de un alcohol idóneo. El ácido fosfatídico es importante como intermediario en la síntesis de triacilgliceroles, así como de fosfogliceroles, pero no se encuentra en gran cantidad en los tejidos.

Las fosfatidilcolinas (lecitinas) se encuentran en membranas celulares

Los fosfoacilgliceroles que contienen colina (figura 15-10) son los fosfolípidos más abundantes de la membrana celular y represen-

*De acuerdo con la terminología estandarizada de la International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) y la International Union of Biochemistry (IUB), los monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos deben designarse monoacilgliceroles, diacilgliceroles y triacilgliceroles, respectivamente. Sin embargo, la terminología más antigua aún recibe una amplia difusión, sobre todo en medicina clínica.

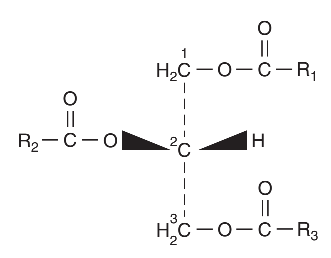


FIGURA 15–9 Triacil-*sn*-glicerol.

Ácido fosfatídico

A

Colina

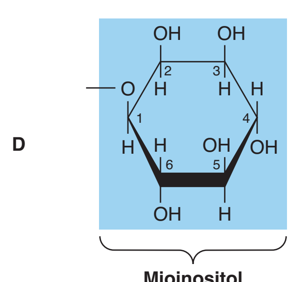
B

Etanolamina

C

Serina

D



Mioinositol

E

Fosfatidilglicerol

FIGURA 15–10 Ácido fosfatídico y sus derivados. El O– que se muestra sombreado en el ácido fosfatídico es sustituido por los sustituyentes que, según se muestra, forman en **A)** 3-fosfatidilcolina, **B)** 3-fosfatidiletanolamina, **C)** 3-fosfatidilserina, **D)** 3-fosfatidilinositol y **E)** cardiolipina (difosfatidilglicerol).

tan una proporción grande de la reserva de colina del cuerpo. La colina es importante en la transmisión nerviosa, como acetilcolina, y como una reserva de grupos metilo lábiles. La **dipalmitoil lecitina** es un agente de superficie (tensoactivo) muy eficaz y un constituyente fundamental del **surfactante** que evita la adherencia, debido a tensión de superficie, de las superficies internas de los pulmones. Su ausencia en los pulmones de prematuros causa **síndrome de dificultad respiratoria**. Casi todos los fosfolípidos tienen un radical acilo saturado en la posición *sn*-1, pero un radical insaturado en la posición *sn*-2 del glicerol.

La **fosfatidiletanolamina (cefalina)** y la **fosfatidilserina** (se encuentra en casi todos los tejidos) también se hallan en las membranas celulares, y sólo difieren de la fosfatidilcolina en que la etanolamina o serina, respectivamente, remplaza a la colina (figura 15-10). La fosfatidilserina también participa en la **apoptosis** (muerte celular programada).

El fosfatidilinositol es un precursor de segundos mensajeros

El inositol está presente en el **fosfatidilinositol** como el estereoisómero, mioinositol (figura 15-10). El **fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato** es un constituyente de importancia de fosfolípidos de membrana celular; en el momento de la estimulación por una hormona agonista idónea, se divide hacia **diacilglicerol** e **inositol trifosfato**, los cuales actúan como señales internas o segundos mensajeros.

La cardiolipina es un importante lípido de las membranas mitocondriales

El ácido fosfatídico es un precursor del **fosfatidilglicerol** que, a su vez, da lugar a la **cardiolipina** (figura 15-10). Este fosfolípido sólo se encuentra en las mitocondrias y es esencial para la función de las mismas. El decremento de las concentraciones de cardiolipina o las alteraciones de su estructura o metabolismo causan disfunción mitocondrial en el envejecimiento y en estados patológicos, entre ellos insuficiencia cardiaca, hipotiroidismo y síndrome de Barth (miopatía cardioesquelética).

Los lisofosfolípidos son intermediarios en el metabolismo de fosfogliceroles

Son fosfoacilgliceroles que contienen sólo un radical acilo, por ejemplo, la **lisofosfatidilcolina (lisolecitina)** (**figura 15-11**), importante en el metabolismo y la interconversión de fosfolípidos. También se encuentra en lipoproteínas oxidadas y ha sido implicada en algunos de sus efectos en la promoción de **aterosclerosis**.

FIGURA 15–11 **Lisofosfatidilcolina (lisolecitina).**

FIGURA 15–12 **Plasmalógeno.**

Los plasmalógenos se encuentran en el cerebro y el músculo

Dichos compuestos constituyen hasta 10% de los fosfolípidos del cerebro y el músculo. Desde el punto de vista estructural, los plasmalógenos semejan fosfatidiletanolamina, pero poseen un enlace éter en el carbono *sn*-1 en lugar del enlace éster que se encuentra en acilgliceroles. En forma típica, el radical alquilo es un alcohol insaturado (**figura 15-12**). En algunos casos, la etanolamina puede sustituirse por colina, serina o inositol.

Las esfingomielinas se encuentran en el sistema nervioso

Las esfingomielinas se encuentran en grandes cantidades en el cerebro y el tejido nervioso. En el momento de la hidrólisis, las esfingomielinas dan un ácido graso, ácido fosfórico, colina, y un complejo amino alcohol, la **esfingosina** (**figura 15-13**). No hay glicerol. La combinación de esfingosina más ácidos grasos se conoce como **ceramida**, estructura que también se encuentra en los glucoesfingolípidos (véase más adelante).

LOS GLUCOLÍPIDOS (GLUCOESFINGOLÍPIDOS) SON IMPORTANTES EN LOS TEJIDOS NERVIOSOS Y EN LA MEMBRANA CELULAR

Los glucolípidos están ampliamente distribuidos en todos los tejidos del cuerpo, en particular en el tejido nervioso, como el cerebro. Se encuentran sobre todo en la hojuela externa de la membrana plasmática, donde contribuyen a **carbohidratos de superficie celular**.

FIGURA 15–13 **Una esfingomielina.**

FIGURA 15–14 **Estructura de la galactosilceramida (galactocerebrósido, R = H), y sulfogalactosilceramida (una sulfatida, R = SO_4^{2-}).**

Los principales glucolípidos que se encuentran en tejidos de animales son glucoesfingolípidos. Contienen ceramida y uno o más azúcares. La **galactosilceramida** es un importante glucoesfingolípido del cerebro y otros tejidos nerviosos, y se encuentra en cantidades relativamente bajas en otros sitios. Contiene varios ácidos grasos C24 característicos, por ejemplo, ácido cerebrónico.

La galactosilceramida (**figura 15-14**) puede convertirse en sulfogalactosilceramida (**sulfatida**), presente en altas cantidades en la **mielina**. La glucosilceramida es el glucoesfingolípido simple predominante de tejidos extraneurales; también se encuentra en el cerebro en pequeñas cantidades. Los **gangliósidos** son glucoesfingolípidos complejos derivados de la glucosilceramida, que además contienen una o más moléculas de un **ácido siálico**. El ácido acetilneuramínico (NeuAc; cap. 14) es el principal ácido siálico que se encuentra en los tejidos de ser humano. Los gangliósidos también están presentes en cifras altas en tejidos nerviosos; parecen tener funciones de receptor y otras. El gangliósido más simple que se encuentra en los tejidos es GM_3, que contiene ceramida, una molécula de glucosa, una molécula de galactosa y una molécula de NeuAc. En la nomenclatura taquigráfica usada, G representa gangliósido; M es una especie que contiene monosialo y el número en subíndice 3 es asignado con base en la migración cromatográfica. GM1 (**figura 15-15**), un gangliósido más complejo derivado de GM_3, es de considerable interés biológico, puesto que se sabe que en el intestino del ser humano es el receptor para la toxina del cólera. Otros gangliósidos pueden contener 1 a 5 moléculas de ácido siálico, lo que da lugar a disialogangliósidos, trisialogangliósidos, etcétera.

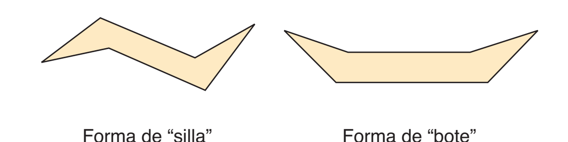
LOS ESTEROIDES DESEMPEÑAN MUCHAS FUNCIONES IMPORTANTES EN EL ASPECTO FISIOLÓGICO

El **colesterol** es quizá el esteroide mejor conocido debido a su relación con la **aterosclerosis** y las enfermedades cardiacas; también es significativo desde el punto de vista bioquímico porque es el precursor de un gran número de **esteroides** igual de importantes que comprenden los ácidos biliares, hormonas adrenocorticales, hormonas sexuales, vitaminas D, glucósidos cardiacos, sitoesteroles del reino vegetal y algunos alcaloides.

Todos los esteroides tienen núcleo cíclico similar que semeja fenantreno (anillos A, B y C) al cual está fijo un anillo ciclopentano (D). Las posiciones de carbono en el núcleo esteroide se numeran como se muestra en la **figura 15-16**. Es importante percatarse de que en fórmulas estructurales de esteroides, un anillo hexagonal simple denota un anillo de seis carbonos por completo saturado, con todas las valencias satisfechas por enlaces hidrógeno, a menos que se muestre lo contrario; es decir, no es un anillo benceno. Todos los dobles enlaces se muestran como tales. Las cadenas laterales metilo se muestran como enlaces únicos sueltos en el extremo más lejano (metilo), mismas que existen típicamente en las posiciones 10 y 13 (que constituyen los átomos C 19 y 18). Una cadena lateral en la posición 17 es habitual (como en el colesterol). Si el compuesto tiene uno o más grupos hidroxilo y ningún grupo carbonilo o carboxilo, es un **esterol**, y el nombre termina en *-ol*.

FIGURA 15–15 **Gangliósido GM1, un monosialogangliósido, el receptor para la toxina del cólera en el intestino del ser humano.**

FIGURA 15–16 **El núcleo esteroide.**



Forma de “silla” Forma de “bote”

FIGURA 15–17 **Conformaciones de estereoisómeros del núcleo esteroide.**

Debido a asimetría en la molécula de esteroide, muchos estereoisómeros son posibles

Cada uno de los anillos de seis carbonos del núcleo esteroide tiene la capacidad de existir en la conformación tridimensional de “silla” o de “bote” (**figura 15-17**). En los esteroides que existen de modo natural, casi todos los anillos están en la forma de “silla”, que es la conformación más estable. Los anillos pueden ser *cis* o *trans*, en función uno del otro (**figura 15-18**). La unión entre los anillos A y B puede ser *cis* o *trans* en esteroides presentes de manera natural. La que hay entre B y C es *trans*, como por lo regular lo es la unión C/D. Los enlaces que fijan grupos sustituyentes por arriba del plano de los anillos (enlaces β) se muestran con líneas continuas y marcadas, mientras que los enlaces que fijan grupos por debajo (enlaces α) se indican con líneas discontinuas. El anillo A de un esteroide 5α siempre es *trans* respecto al anillo B, mientras que es *cis* en un esteroide 5β. Los grupos metilo fijos a C10 y C13 siempre están en la configuración β.

El colesterol es un constituyente importante de muchos tejidos

El colesterol (**figura 15-19**) está ampliamente distribuido en todas las células del cuerpo, pero en particular en el tejido nervioso. Es un constituyente de importancia de la membrana plasmática y de las lipoproteínas plasmáticas. A menudo se encuentra como **colesteril éster**, donde el grupo hidroxilo en la posición 3 está esterificado con un ácido graso de cadena larga. Se encuentra en animales, no así en vegetales ni en bacterias.

FIGURA 15–18 **Núcleo esteroide generalizado, que muestra A) una configuración holo-*trans* entre anillos adyacentes y B) una configuración *cis* entre anillos A y B.**

FIGURA 15–19 **Colesterol, 3-hidroxi-5,6-colesteno.**

El ergosterol es un precursor de la vitamina D

El ergosterol se encuentra en plantas y levadura, y es importante como un precursor de la vitamina D (**figura 15-20**). Cuando se irradia con luz ultravioleta, el anillo B se abre para formar vitamina D_2 en un proceso similar al que forma vitamina D_3 a partir del 7-deshidrocolesterol en la piel (figura 44-3).

Los poliprenoides comparten el mismo compuesto original que el colesterol

Aun cuando no son esteroides, los poliprenoides están relacionados porque se sintetizan, al igual que el colesterol (figura 26-2), a partir de unidades de isopreno de cinco carbonos (**figura 15-21**). Incluyen la **ubiquinona** (cap. 13), que participa en la cadena respiratoria en las mitocondrias, y el alcohol de cadena larga **dolicol** (**figura 15-22**), que participa en la síntesis de glucoproteína al transferir residuos carbohidrato hacia residuos asparagina del polipéptido (cap. 47). Los compuestos isoprenoide derivados de vegetales comprenden caucho, alcanfor, las vitaminas liposolubles A, D, E y K, y β-caroteno (provitamina A).

LA PEROXIDACIÓN LIPÍDICA ES UNA FUENTE DE RADICALES LIBRES

La peroxidación **(autooxidación)** de lípidos expuestos a oxígeno no sólo causa deterioro de alimentos **(rancidez)** sino que también daña tejidos *in vivo*, donde puede ser una causa de cáncer, enfermedades inflamatorias, aterosclerosis y envejecimiento. Se considera que los efectos nocivos se originan por **radicales libres** (ROO•, RO•, OH•) producidos durante el transcurso de la formación de peróxido a partir de ácidos grasos que contienen dobles enlaces interrumpidos por metileno, esto es, los que se encuentran en los ácidos grasos poliinsaturados que existen de modo natural (**figura 15-23**). La peroxidación lipídica es una reacción en cadena que proporciona un aporte continuo de

FIGURA 15–20 **Ergosterol.**

FIGURA 15–21 **Unidad de isopreno.**

radicales libres que inician peroxidación adicional y, así, tienen efectos en potencia devastadores. El proceso entero puede describirse como sigue:

1. Iniciación:

$$ROOH + Metal^{(n)+} \rightarrow ROO^{\bullet} + Metal^{(n-1)+} + H^+$$
$$X^{\bullet} + RH \rightarrow R^{\bullet} + XH$$

2. Propagación:

$$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow ROO^{\bullet}$$
$$ROO^{\bullet} + RH \rightarrow ROOH + R^{\bullet}, etc.$$

3. Terminación:

$$ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet} \rightarrow ROOR + O_2$$
$$ROO^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow ROOR$$
$$R^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow RR$$

Para controlar la peroxidación lipídica y reducirla, tanto los seres humanos en sus actividades, como la Naturaleza, recurren al uso de **antioxidantes**. El propil galato, el hidroxianisol butilado (BHA) y el hidroxitolueno butilado (BHT) son antioxidantes que se usan como aditivos de alimentos. Los antioxidantes naturales incluyen vitamina E (tocoferol), que es liposoluble, y urato y vitamina C, que son hidrosolubles. El β-caroteno es un antioxidante a PO_2 baja. Los antioxidantes caen dentro de dos clases: 1) antioxidantes preventivos, que reducen el índice de iniciación de cadena oxidativa, y 2) antioxidantes que rompen la cadena oxidativa, que interfieren con la propagación de dicha cadena. Los antioxidantes preventivos comprenden la catalasa y otras peroxidasas, como la glutatión peroxidasa (figura 21-3), que reaccionan con ROOH; selenio, un componente esencial de la glutatión peroxidasa y que regula su actividad, y quelantes de iones metálicos, como EDTA (etilendiaminotetraacetato) y DTPA (dietilentriaminopentaacetato). *In vivo*, los principales antioxidantes

FIGURA 15–22 **Dolicol, un alcohol C95.**

que rompen la cadena oxidativa son la superóxido dismutasa, que actúa en la fase acuosa para atrapar radicales libres superóxido ($O_2^{\bullet-}$) urato y vitamina E, que actúan en la fase lipídica para atrapar radicales $ROO^{\bullet}$ (figura 44-6).

La peroxidación también es catalizada *in vivo* por compuestos hem (hemo) y por **lipooxigenasas** que se encuentran en plaquetas y leucocitos. Otros productos de autooxidación u oxidación enzimática de importancia fisiológica incluyen **oxiesteroles** (formados a partir del colesterol) e **isoprostanos** (formados a partir de la peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados, como ácido araquidónico).

LOS LÍPIDOS ANFIPÁTICOS SE ORIENTAN POR SÍ MISMOS EN INTERFASES DE ACEITE:AGUA

Forman membranas, micelas, liposomas y emulsiones

En general, los lípidos son insolubles en agua porque contienen un predominio de grupos no polares (hidrocarburo). Sin embargo, los ácidos grasos, los fosfolípidos, los esfingolípidos, las sales biliares y, en menor grado, el colesterol, contienen grupos polares. En consecuencia, parte de la molécula es **hidrofóbica**, o insoluble en agua, y parte **hidrofílica**, o soluble en agua. Tales moléculas se describen como **anfipáticas** (**figura 15-24**); y se orientan en interfases de aceite:agua con el grupo polar en la fase acuosa y el grupo no polar en la fase oleosa. Una bicapa de ese tipo de lípidos anfipáticos es la estructura básica en **membranas** biológicas (cap. 40). Cuando hay una concentración crítica de estos lípidos en un medio acuoso, forman **micelas**. Los **liposomas** pueden formarse sometiendo a ultrasonido un lípido anfipático en un medio acuoso. Constan de esferas de bicapas

FIGURA 15–23 **Peroxidación lipídica.** La reacción es iniciada por un radical libre existente ($X^{\bullet}$), por la luz o por iones metálicos. El malondialdehído sólo es formado por ácidos grasos con tres o más dobles enlaces, y se usa como una medida de la peroxidación lipídica junto con el etano de los dos carbonos terminales de ácidos grasos ω3, y pentano de los cinco carbonos terminales de ácidos grasos ω6.

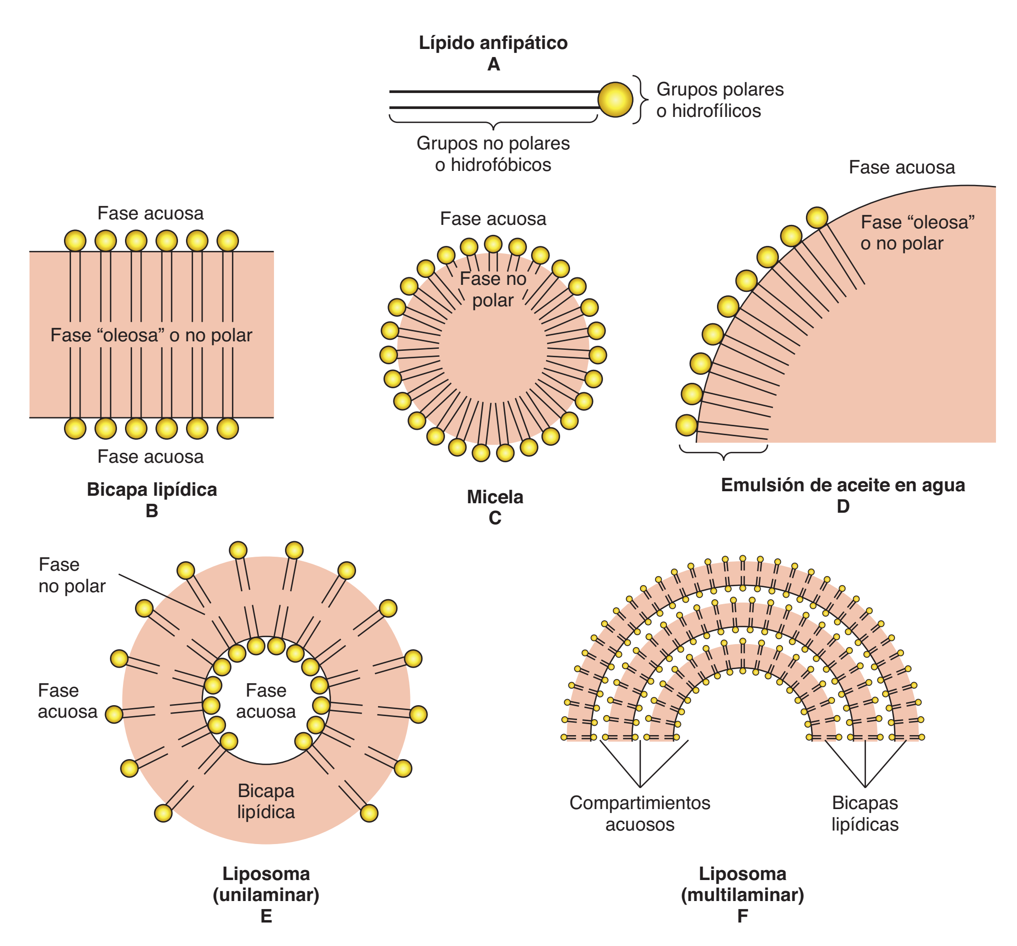


FIGURA 15–24 **Formación de membranas lipídicas, micelas, emulsiones y liposomas a partir de lípidos anfipáticos, por ejemplo, fosfolípidos.**

lipídicas que encierran parte del medio acuoso. Las agregaciones de sales biliares hacia micelas y liposomas, y la formación de micelas mixtas con los productos de la digestión de grasas tienen importancia en facilitar la absorción de lípidos en el intestino. Los liposomas tienen uso clínico potencial —en particular cuando se combinan con anticuerpos específicos para tejido— como acarreadores de fármacos en la circulación, y dirigidos hacia órganos específicos, por ejemplo, en la terapia para el cáncer. Además, se usan para transferencia de genes hacia células vasculares, y como acarreadores para el aporte tópico y transdérmico de medicamentos y cosméticos. Las **emulsiones** son partículas de tamaño mucho mayor —por lo general formadas por lípidos no polares en un medio acuoso— y se estabilizan por medio de agentes emulsificantes, como lípidos anfipáticos (p. ej., lecitina), que forman una capa de superficie que separa la masa principal del material no polar de la fase acuosa (figura 15-24).

RESUMEN

- Los lípidos tienen la propiedad común de ser relativamente insolubles en agua (hidrofóbicos) pero solubles en solventes no polares. Los lípidos anfipáticos también contienen uno o más grupos polares, lo que hace que sean idóneos como constituyentes de membranas en interfases lípido-agua.
- Los lípidos de gran importancia fisiológica son los ácidos grasos y sus ésteres, junto con el colesterol y otros esteroides.
- Los ácidos grasos de cadena larga pueden ser saturados, monoinsaturados o poliinsaturados, de acuerdo con el número de dobles enlaces presentes. Su fluidez se aminora con la longitud de la cadena, y aumenta de acuerdo con el grado de insaturación.
- Los eicosanoides se forman a partir de ácidos grasos poliinsaturados de 20 carbonos, y constituyen un importante grupo de compuestos que tienen actividad fisiológica y farmacológica, conocidos como prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y lipoxinas.
- Los ésteres de glicerol son los lípidos de mayor importancia en el aspecto cuantitativo, representados por el triacilglicerol ("grasa"), un constituyente importante de algunas clases de lipoproteínas, y la forma de almacenamiento de lípido en el tejido adiposo. Los fosfoacilgliceroles son lípidos anfipáticos, y tienen funciones importantes: como constituyentes principales de membranas y la capa externa de lipoproteínas, como surfactantes en los pulmones, como precursores de segundos mensajeros, y como constituyentes del tejido nervioso.
- Los glucolípidos también son constituyentes importantes del tejido nervioso, como el cerebro y la hojuela externa de la membrana celular, donde contribuyen a los carbohidratos en la superficie de la célula.
- El colesterol, un lípido anfipático, es un componente de importancia de las membranas. Es la molécula original a partir de la cual se sintetizan todos los otros esteroides en el cuerpo, incluso hormonas importantes como las hormonas adrenocorticales y sexuales, vitaminas D y ácidos biliares.

- La peroxidación de lípidos que contienen ácidos grasos poliinsaturados lleva a la generación de radicales libres que dañan tejidos y causan enfermedad.

REFERENCIAS

Benzie IFF: Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurement and dietary influences. Int J Food Sci Nutr 1996;47:233.

Christie WW: *Lipid Analysis,* 3rd ed. The Oily Press, 2003.

Dowhan W, Bodanov H, Mileykovskaya E: Functional roles of lipids in membranes. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes,* 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008: 1–37.

Gunstone FD, Harwood JL, Dijkstra AJ: *The Lipid Handbook with CD-Rom.* CRC Press, 2007.

Gurr MI, Harwood JL, Frayn K: *Lipid Biochemistry.* Blackwell Publishing, 2002.

Perspectiva general del metabolismo y el suministro de combustibles metabólicos

CAPÍTULO

16

David A. Bender, PhD y Peter E. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar qué significan las vías metabólicas anabólica, catabólica y anfibólica.
- Describir un esbozo del metabolismo de los carbohidratos, lípidos y aminoácidos en el ámbito de tejidos y órganos, y en el ámbito subcelular, y cómo los combustibles metabólicos son interconvertibles.
- Describir las maneras en las cuales se regula el flujo de metabolitos por vías metabólicas.
- Describir cómo los estados tanto posprandial como de ayuno proporcionan un aporte de combustibles metabólicos; la formación de reservas de combustibles metabólicos en el estado posprandial, y su movilización en el ayuno.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

"Metabolismo" es el término que se usa para describir la interconversión de compuestos químicos en el cuerpo, las vías que siguen moléculas individuales, sus interrelaciones, y los mecanismos que regulan el flujo de metabolitos a través de las vías. Las vías metabólicas se clasifican en tres categorías: 1) **vías anabólicas**, que son las implicadas en la síntesis de compuestos de mayor tamaño y más complejos a partir de precursores de menor tamaño, por ejemplo, la síntesis de proteína a partir de aminoácidos, y la síntesis de reservas de triacilglicerol y glucógeno. Las vías anabólicas son endotérmicas. 2) **Vías catabólicas**, que están involucradas en la desintegración de moléculas de mayor tamaño; por lo general implican reacciones oxidativas; son exotérmicas; dan por resultado equivalentes reductores, y, principalmente por medio de la cadena respiratoria, ATP. 3) **Vías anfibólicas**, que se presentan en las "encrucijadas" del metabolismo, y actúan como enlaces entre las vías anabólicas y catabólicas, por ejemplo, el ciclo del ácido cítrico.

El conocimiento del metabolismo normal es esencial para entender las anormalidades que fundamentan la enfermedad. El metabolismo normal incluye adaptación a periodos de inanición, ejercicio, embarazo y lactación. El metabolismo anormal puede producirse por deficiencia nutricional, deficiencia de enzimas, secreción anormal de hormonas, o las acciones de fármacos y toxinas.

Un ser humano adulto de 70 kg requiere alrededor de 8 a 12 MJ (1 920 a 2 900 kcal) provenientes de combustibles metabólicos cada día, según su actividad física. Los animales de mayor tamaño necesitan menos y los animales de menor tamaño más, por kilogramo de peso corporal, y los niños y animales en crecimiento tienen un requerimiento proporcionalmente mayor debido al costo de energía del crecimiento. Para seres humanos este requerimiento se satisface a partir de carbohidratos (40 a 60%), lípidos (sobre todo triacilglicerol, 30 a 40%) y proteína (10 a 15%), así como alcohol. La mezcla de carbohidratos, lípidos y proteínas que se está oxidando varía, según si el sujeto se encuentra en el estado alimentado o de ayuno, y de la duración y la intensidad del trabajo físico.

El requerimiento de combustibles metabólicos es relativamente constante durante todo el día, dado que la actividad física promedio sólo aumenta el índice metabólico alrededor de 40 a 50% sobre el basal o en reposo. Sin embargo, la mayoría de las personas consume en dos o tres comidas su ingestión diaria de combustibles metabólicos, de modo que hay una necesidad de almacenar carbohidratos (glucógeno en el hígado y en los músculos) y lípidos (triacilglicerol en el tejido adiposo) durante el periodo que sigue a una comida, para uso durante el tiempo interpuesto cuando no hay ingestión de alimento.

Si la ingestión de combustibles metabólicos es constantemente mayor que el gasto de energía, el excedente se almacena, en su mayor parte como triacilglicerol en el tejido adiposo, lo que conduce a **obesidad** y a los peligros para la salud que conlleva. En contraste, si la ingestión de combustibles metabólicos es constantemente menor que el gasto de energía, las reservas de grasas y carbohidratos son insignificantes, y se usan aminoácidos que surgen a partir del recambio de proteína, para metabolismo que origina energía más que para remplazar la síntesis de proteínas, lo que da pie a **emaciación** y, por último, a la muerte (cap. 43).

En el estado posprandial, después de una comida, hay un amplio aporte de carbohidratos, y el combustible metabólico para

casi todos los tejidos es la glucosa. En el estado de ayuno, es necesario reservar la glucosa para uso por el sistema nervioso central (que depende en su mayor parte de glucosa) y los eritrocitos (que dependen por completo de la glucosa). De modo que los tejidos que pueden usar otros combustibles distintos a la glucosa, lo hacen; el músculo y el hígado oxidan ácidos grasos, y el hígado sintetiza cuerpos cetónicos a partir de ácidos grasos para exportarlos hacia los músculos y otros tejidos. Conforme se agotan las reservas de glucógeno, se usan para **gluconeogénesis** aminoácidos que surgen a partir del recambio de proteína.

La formación de reservas de triacilglicerol y glucógeno, y la utilización de las mismas, y el grado al cual los tejidos captan glucosa y la oxidan, están en su mayor parte controlados por las hormonas **insulina** y **glucagón.** En la **diabetes mellitus** hay síntesis y secreción alteradas de insulina (diabetes tipo 1, a veces llamada diabetes de inicio juvenil o diabetes insulinodependiente) o sensibilidad alterada de los tejidos a la acción de la insulina (diabetes tipo 2, a veces llamada diabetes de inicio en el adulto o no insulinodependiente), que lleva a alteración metabólica grave. Las demandas de la lactación intensa en el ganado vacuno pueden llevar a cetosis, al igual que las demandas que plantea el embarazo gemelar en ovejas.

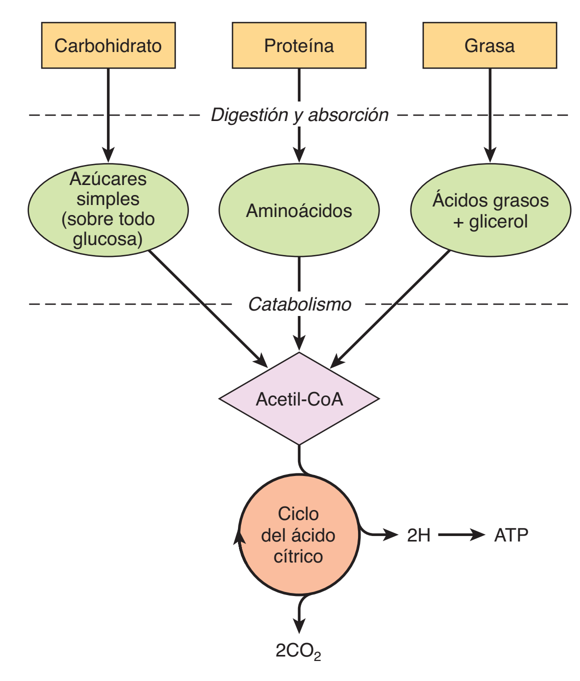


FIGURA 16–1 Esbozo de las vías para el catabolismo de carbohidratos, proteínas y grasas de la dieta. Todas las vías llevan a la producción de acetil-CoA, que se oxida en el ciclo del ácido cítrico y al final produce ATP mediante el proceso de fosforilación oxidativa.

VÍAS QUE PROCESAN LOS PRINCIPALES PRODUCTOS DE LA DIGESTIÓN

La naturaleza de la dieta establece el modelo básico de metabolismo. Hay una necesidad de procesar los productos de la digestión de carbohidratos, lípidos y proteínas de la dieta; se trata en particular de glucosa, ácidos grasos y glicerol, y aminoácidos, respectivamente. En rumiantes (y, un tanto menos, en otros herbívoros), los microorganismos simbióticos fermentan la celulosa de la dieta hacia ácidos grasos de cadena corta (acético, propiónico, butírico), y en estos animales el metabolismo está adaptado para emplear estos ácidos grasos como los principales sustratos. Todos los productos de la digestión se metabolizan hacia un **producto común**, **la acetil-CoA**, que luego se oxida mediante el **ciclo del ácido cítrico (figura 16-1).**

El metabolismo de los carbohidratos se centra en el suministro de glucosa y el destino de la misma

La glucosa es el principal combustible de casi todos los tejidos (**figura 16-2**). Se metaboliza hacia piruvato por la vía de la **glucólisis**. Los tejidos aeróbicos metabolizan el piruvato hacia **acetil-CoA**, que puede entrar al ciclo del ácido cítrico para oxidación completa hacia CO_2 y H_2O, enlazada a la formación de ATP en el proceso de **fosforilación oxidativa** (figura 13-2). La glucólisis también puede ocurrir de manera anaeróbica (en ausencia de oxígeno) cuando el producto terminal es lactato.

La glucosa y sus metabolitos también participan en otros procesos, por ejemplo: 1) la síntesis del polímero de almacenamiento **glucógeno** en el músculo estriado y el hígado. 2) La **vía de la pentosa fosfato**, una alternativa para parte de las vías de la glucólisis. Es una fuente de equivalentes reductores (NADPH) para la síntesis de ácido graso, y la fuente de **ribosa** para la síntesis de nucleótido y ácido nucleico. 3) Los triosa fosfatos dan lugar a la **porción glicerol** de los triacilgliceroles. 4) El piruvato y los intermediarios del ciclo del ácido cítrico proporcionan los esqueletos de carbono para la síntesis de **aminoácidos** no esenciales, y la acetil-CoA es el precursor de **ácidos grasos** y **colesterol** (y, por ende, de todos los esteroides sintetizados en el cuerpo). La **gluconeogénesis** es el proceso de formación de glucosa a partir de precursores no carbohidratos, por ejemplo, lactato, aminoácidos y glicerol.

El metabolismo de los lípidos se relaciona principalmente con ácidos grasos y colesterol

La fuente de ácidos grasos de cadena larga son los lípidos de la dieta o la síntesis *de novo* a partir de acetil-CoA derivada de carbohidratos o aminoácidos. Los ácidos grasos se pueden oxidar hacia **acetil-CoA (β-oxidación)** o esterificar con glicerol, lo que forma **triacilglicerol** (grasa) como la principal reserva de combustible del cuerpo.

La acetil-CoA formada mediante β-oxidación puede tener tres destinos (**figura 16-3**).

1. Al igual que con la acetil-CoA que surge a partir de la glucólisis, se **oxida** hacia CO_2 + H_2O por medio del ciclo del ácido cítrico.
2. Es el precursor para la síntesis de **colesterol** y otros **esteroides**.
3. En el hígado, se usa para formar **cuerpos cetónicos** (acetoacetato y 3-hidroxibutirato) que son combustibles importantes en el ayuno prolongado y la inanición.

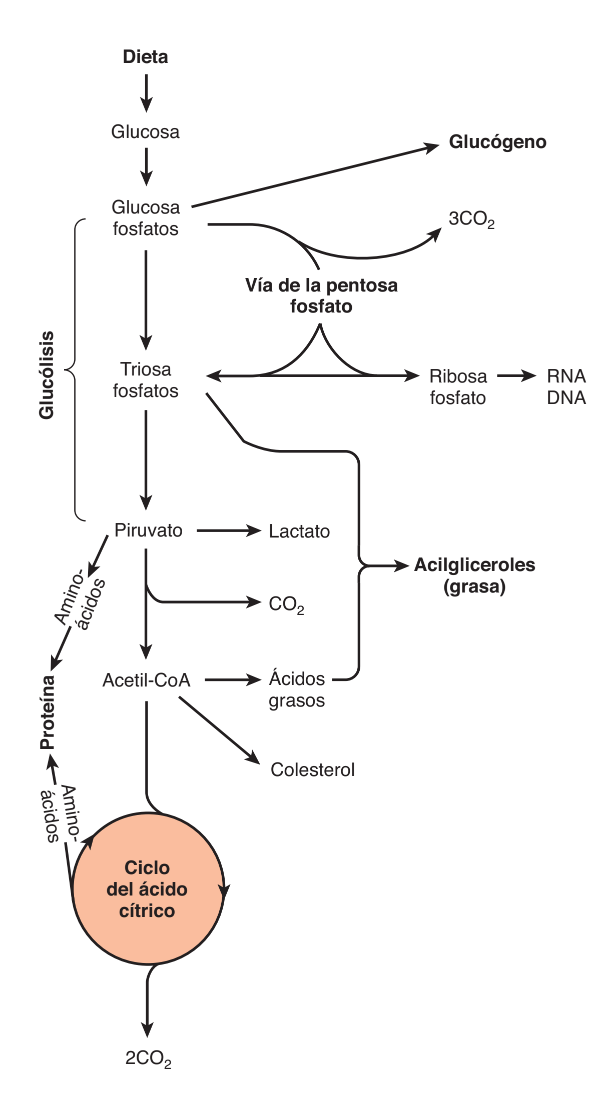


FIGURA 16–2 Perspectiva general del metabolismo de carbohidratos, que muestra las principales vías y productos terminales. No se muestra la gluconeogénesis.

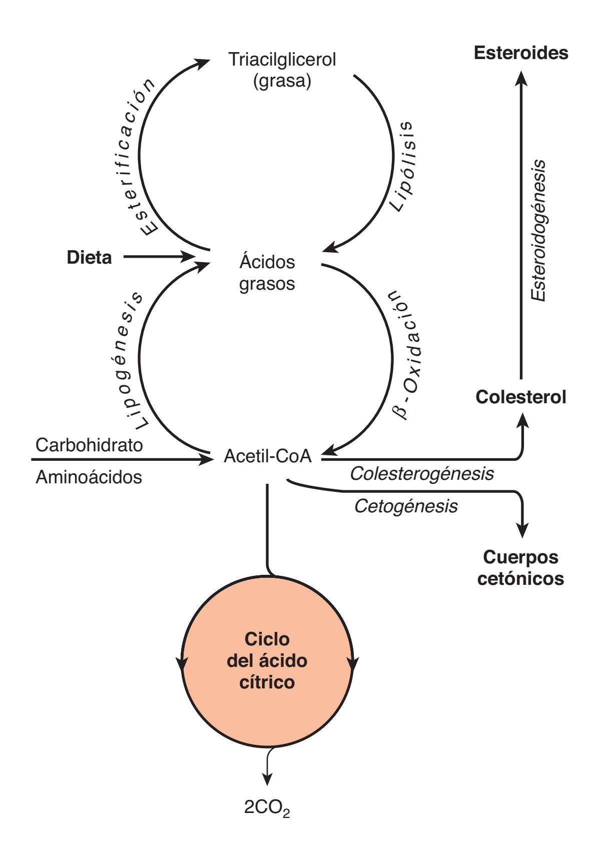


FIGURA 16–3 Perspectiva general del metabolismo de ácidos grasos, que muestra las principales vías y productos terminales. Los cuerpos cetónicos son acetoacetato, 3-hidroxibutirato y acetona.

Gran parte del metabolismo de aminoácidos comprende transaminación

Los aminoácidos son necesarios para efectuar la síntesis de proteína (**figura 16-4**). Algunos deben suministrarse en la dieta (los **aminoácidos esenciales** o **indispensables**), porque no se pueden sintetizar en el organismo. El resto son **aminoácidos no esenciales** o **dispensables**, que provienen de la dieta, pero también pueden formarse a partir de intermediarios metabólicos mediante **transaminación** usando el grupo amino de otros aminoácidos. Después de **desaminación**, el nitrógeno amino se excreta como **urea**, y los esqueletos de carbono que permanecen luego de transaminación pueden: 1) oxidarse hacia CO_2 por medio del ciclo del ácido cítrico, 2) usarse para sintetizar glucosa (gluconeogénesis) o 3) formar cuerpos cetónicos o acetil CoA, que se oxidan o emplean para la síntesis de ácidos grasos.

Varios aminoácidos también son los precursores de otros compuestos, por ejemplo, purinas, pirimidinas, hormonas como epinefrina y tiroxina, y neurotransmisores.

LAS VÍAS METABÓLICAS PUEDEN ESTUDIARSE A DIFERENTES NIVELES DE ORGANIZACIÓN

Además de estudios en el organismo entero, la localización e integración de vías metabólicas se revela mediante estudios a varios niveles de organización. 1) En el **ámbito de tejido y órgano**, se define la naturaleza de los sustratos que entran a ellos, y de los metabolitos que salen de los mismos. 2) En el **ámbito subcelular** cada organelo (p. ej., la mitocondria) o compartimiento (p. ej., el citosol) celular tiene funciones específicas que forman parte de un modelo subcelular de vías metabólicas.

En el ámbito de tejido y órgano, la circulación de la sangre integra el metabolismo

Los **aminoácidos** generados por la digestión de proteína de la dieta y la **glucosa** producida por la digestión de carbohidratos, se absorben por medio de la vena porta hepática. El hígado tiene la función de regular la concentración sanguínea de estos metabolitos hidrosolubles (**figura 16-5**). En el caso de la glucosa, esto se logra al captar la que excede los requerimientos inmediatos, y usarla para sintetizar glucógeno (**glucogénesis**, cap. 19) o ácidos grasos (**lipogénesis**, cap. 23). Entre las comidas, el hígado actúa para mantener las cifras sanguíneas de glucosa al desintegrar

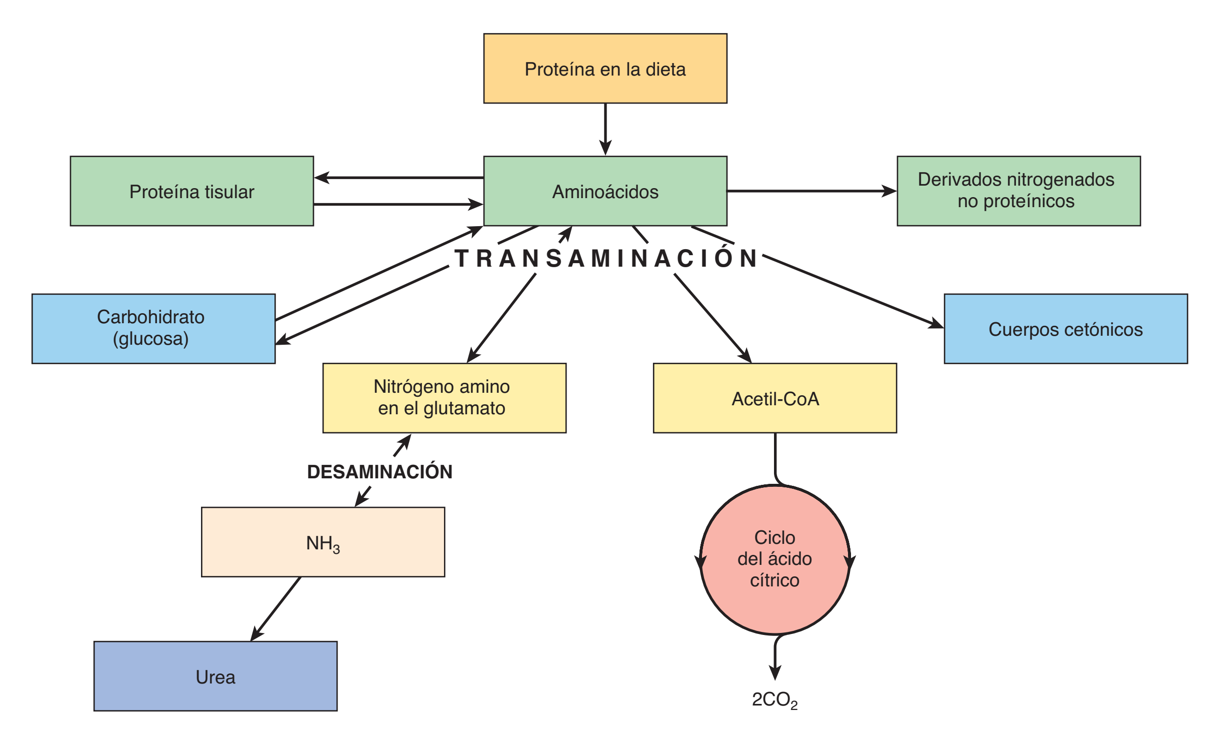


FIGURA 16–4 Perspectiva general del metabolismo de aminoácidos, que muestra las principales vías y productos terminales.

glucógeno (**glucogenólisis**, cap. 19) y, junto con los riñones, al convertir metabolitos no carbohidrato, como lactato, glicerol y aminoácidos, en glucosa (**gluconeogénesis**, cap. 20). El mantenimiento de una concentración adecuada de glucosa en la sangre es vital para los tejidos en los cuales es el principal combustible (el cerebro) o el único combustible (los eritrocitos). El hígado también **sintetiza las principales proteínas plasmáticas** (p. ej., albúmina) y **desamina aminoácidos** que exceden los requerimientos, sintetizando urea, que es transportada hacia los riñones y excretada (cap. 28).

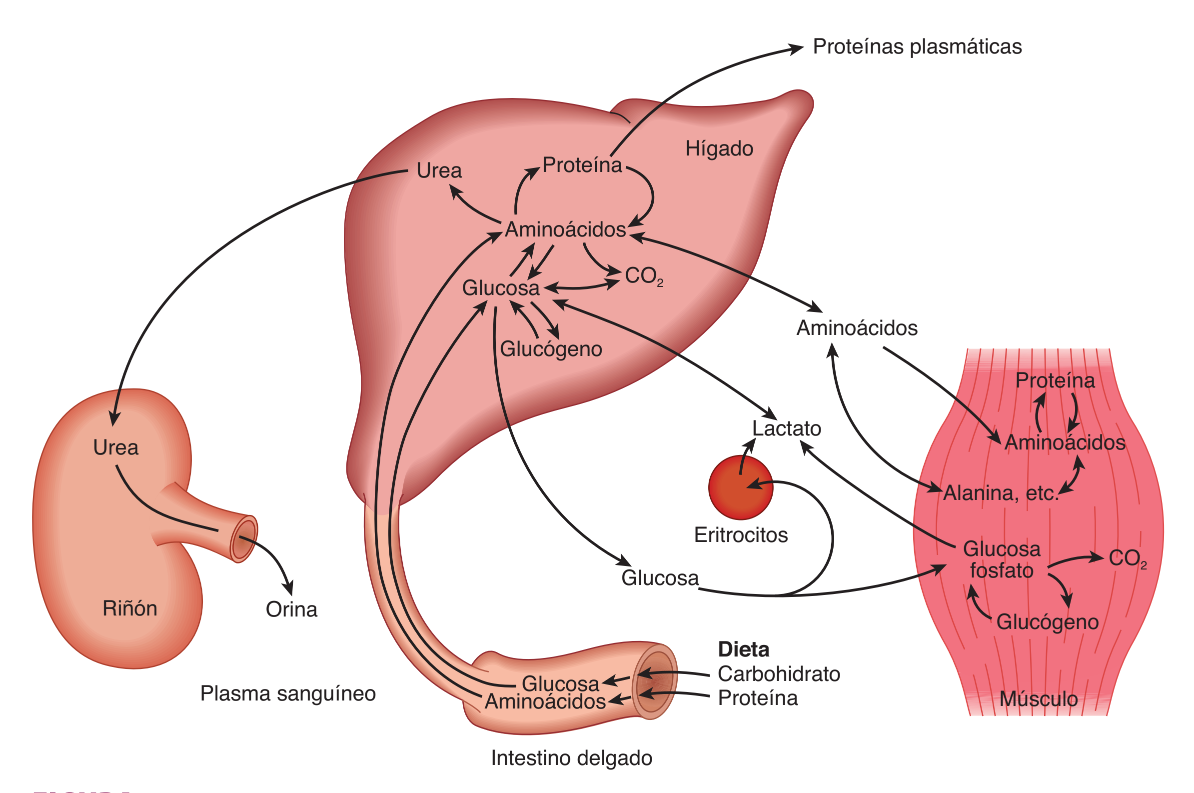


FIGURA 16–5 Transporte y destino de los sustratos y metabolitos carbohidratos y aminoácidos importantes. Note que hay poca glucosa libre en el músculo, porque es fosforilada con rapidez en el momento de la entrada.

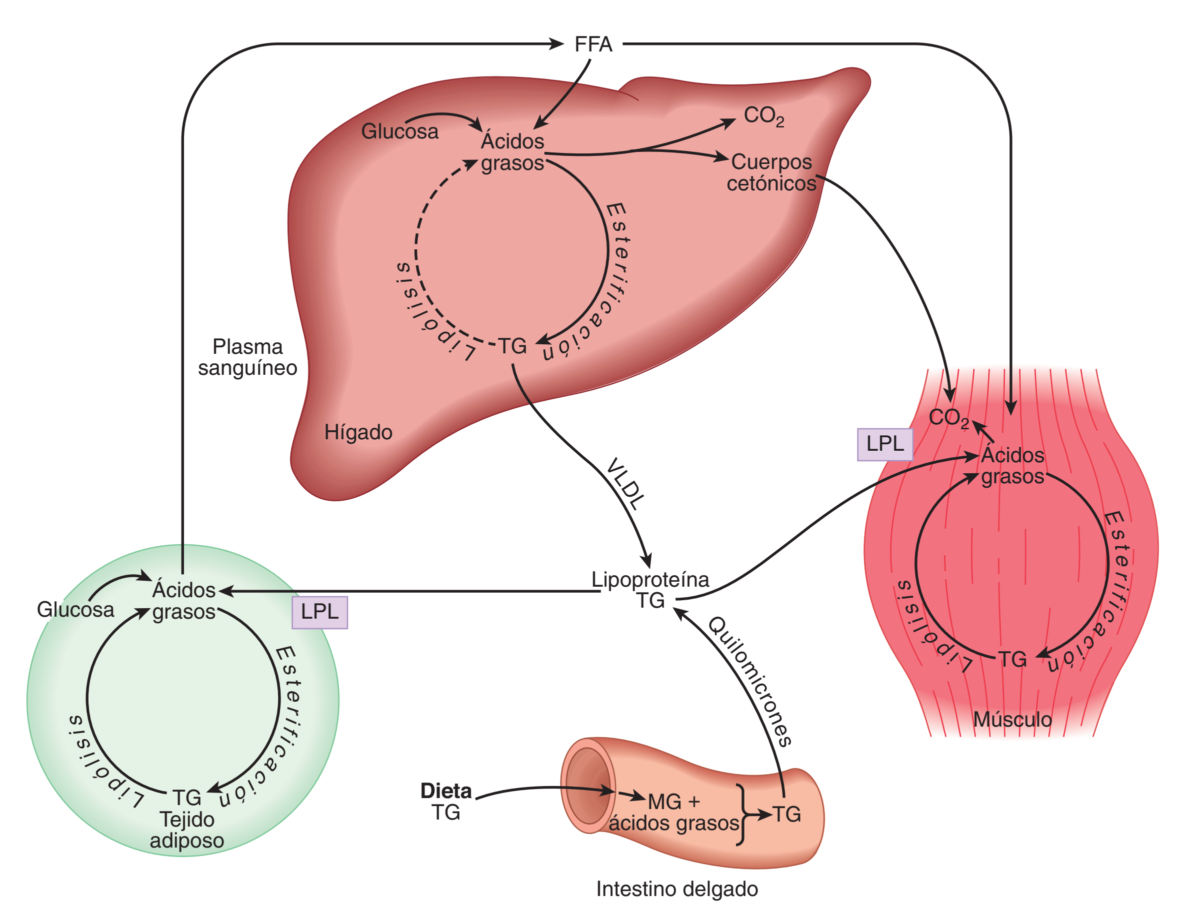


FIGURA 16–6 **Transporte y destino de sustratos y metabolitos lípidos importantes.** (FFA, ácidos grasos libres; LPL, lipoproteína lipasa; MG, monoacilglicerol; TG, triacilglicerol; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad.)

El **músculo esquelético** utiliza glucosa como combustible, de modo tanto aeróbico, formando CO_2, como anaeróbico, formando lactato. Almacena glucógeno como un combustible para uso en la contracción muscular, y sintetiza proteína muscular a partir de aminoácidos plasmáticos. El músculo conforma alrededor de 50% de la masa corporal y, por consiguiente, representa una considerable reserva de proteína a la cual puede recurrirse para aportar aminoácidos para gluconeogénesis en la inanición (cap. 20).

Los **lípidos** en la dieta (**figura 16-6**) son sobre todo triacilglicerol, y se hidrolizan hacia monoacilgliceroles y ácidos grasos en el intestino, y después se vuelven a esterificar en la mucosa intestinal. Ahí son empacados con proteína y secretados hacia el sistema linfático y, desde allí, hacia el torrente sanguíneo como **quilomicrones**, las **lipoproteínas** plasmáticas de mayor tamaño; éstos también contienen otros nutrientes liposolubles. Al contrario de la glucosa y los aminoácidos, el hígado no capta de manera directa el quilomicrón triacilglicerol. Primero se metaboliza en los tejidos que tienen **lipoproteína lipasa**, que hidroliza el triacilglicerol, lo que libera ácidos grasos que se incorporan hacia lípidos hísticos o se oxidan como combustible. El hígado elimina los remanentes de quilomicrón. La otra fuente principal de ácidos grasos de cadena larga es la síntesis **(lipogénesis)** a partir de carbohidrato, en el tejido adiposo y en el hígado.

El triacilglicerol del tejido adiposo es la principal reserva de combustible del cuerpo. Se hidroliza **(lipólisis)**, y se liberan glicerol y ácidos grasos libres hacia la circulación. El glicerol es un sustrato para la gluconeogénesis. Los ácidos grasos son transportados unidos a albúmina sérica; son captados por casi todos los tejidos (aunque no por el cerebro o los eritrocitos), y se esterifican hacia triacilgliceroles para almacenamiento o se oxidan como un combustible. En el hígado, el triacilglicerol recién sintetizado, así como aquel que proviene de remanentes de quilomicrón (figura 25-3) se secreta hacia la circulación en **lipoproteína de muy baja densidad** (**VLDL**, del inglés *very low density lipoprotein*); dicho triacilglicerol tiene un destino similar al de los quilomicrones. La oxidación parcial de ácidos grasos en el hígado conduce a la producción de **cuerpos cetónicos** (**cetogénesis**, cap. 22), algunos de los cuales se exportan hacia tejidos extrahepáticos, donde actúan como un combustible en el ayuno y la inanición prolongados.

En el ámbito subcelular, la glucólisis ocurre en el citosol, y el ciclo del ácido cítrico en las mitocondrias

La compartimentación de vías en compartimientos subcelulares u organelos separados permite la integración y regulación del metabolismo. No todas las vías tienen igual importancia en todas las células. En la **figura 16-7** se describe la compartimentación subcelular de vías metabólicas en una célula del parénquima hepático.

La principal función de la **mitocondria** queda de manifiesto de inmediato, porque actúa como el foco del metabolismo de

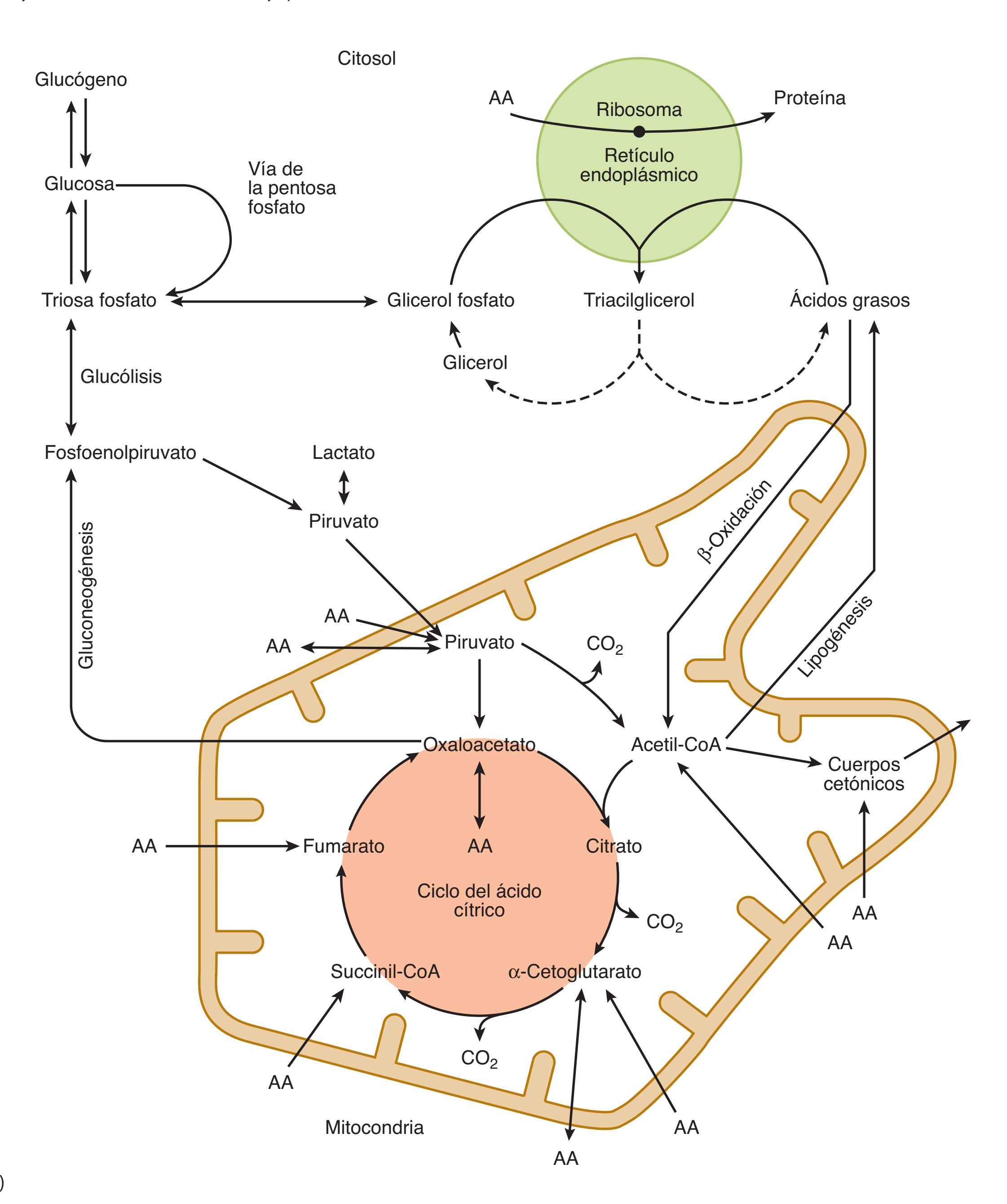


FIGURA 16–7 Ubicación intracelular y perspectiva general de vías metabólicas importantes en una célula parenquimatosa del hígado. (AA →, metabolismo de uno o más aminoácidos esenciales; AA ↔, metabolismo de uno o más aminoácidos no esenciales.)

carbohidratos, lípidos y aminoácidos. Contiene las enzimas del ciclo del ácido cítrico (cap. 17), la β-oxidación de ácidos grasos y la cetogénesis (cap. 22), así como la cadena respiratoria y la ATP sintasa (cap. 13).

La glucólisis (cap. 18), la vía de la pentosa fosfato (cap. 21) y la síntesis de ácidos grasos (cap. 23) ocurren en el citosol. En la gluconeogénesis (cap. 20), los sustratos como lactato y piruvato, que se forman en el citosol, entran en la mitocondria y dan **oxaloacetato** como un precursor para la síntesis de glucosa en el citosol.

Las membranas del **retículo endoplásmico** contienen el sistema de enzimas para la **síntesis de triacilglicerol** (cap. 24), y los **ribosomas** se encargan de la **síntesis de proteína** (cap. 37).

EL FLUJO DE METABOLITOS POR VÍAS METABÓLICAS DEBE REGULARSE DE UN MODO CONCERTADO

La regulación del flujo general a través de una vía es importante para asegurar un aporte apropiado de los productos de esa vía. Se logra por medio de control de una o más reacciones clave en la vía, catalizadas por **enzimas reguladoras**. Los factores fisicoquímicos que controlan el índice de una reacción catalizada por enzima, como las concentraciones de sustrato, tienen importancia primaria en el control del índice general de una vía metabólica (cap. 9).

Las reacciones no de equilibrio son puntos de control potenciales

En una reacción en equilibrio, las reacciones hacia adelante e inversas suceden a índices iguales y, por tanto, no hay flujo neto en una u otra dirección.

$$A \leftrightarrow B \leftrightarrow C \leftrightarrow D$$

In vivo, en condiciones de "estado estable", hay flujo neto de izquierda a derecha porque hay aporte de A y eliminación de D, continuos. En la práctica, normalmente hay una o más reacciones **no de equilibrio** en una vía metabólica, donde los reactivos están presentes en concentraciones que están lejos del equilibrio. Al intentar alcanzar el equilibrio, se pierden grandes cantidades de energía libre, lo que hace que este tipo de reacción sea en esencia irreversible.

$$A \leftrightarrow B \overset{\text{Calor}}{\rightarrow} C \leftrightarrow D$$

Ese tipo de vía tiene tanto flujo como dirección. Las enzimas que catalizan reacciones no de equilibrio por lo general están presentes en cifras bajas, y sujetas a diversos mecanismos reguladores. Empero, casi ninguna reacción en vías metabólicas puede clasificarse como de equilibrio o no de equilibrio, sino que cae en algún lugar entre ambos extremos.

La reacción generadora de flujo es la primera reacción en una vía que se satura con el sustrato

Puede identificarse como una reacción no de equilibrio en la cual la K_m de la enzima es mucho menor que la concentración normal de sustrato. La primera reacción en la glucólisis, catalizada por hexocinasa (figura 18-2), es un paso generador de flujo de ese tipo porque su K_m para la glucosa de 0.05 mmol/L está bastante por abajo de las cifras normales de glucosa en la sangre de 5 mmol/L. Posteriores reacciones controlan entonces la velocidad de flujo a través de la vía.

LOS MECANISMOS ALOSTÉRICOS Y HORMONALES TIENEN IMPORTANCIA EN EL CONTROL METABÓLICO DE REACCIONES CATALIZADAS POR ENZIMA

En la **figura 16-8** se muestra una vía metabólica hipotética, en la cual las reacciones A ↔ B y C ↔ D son reacciones de equilibrio y B → C es una reacción no de equilibrio. El flujo por ese tipo de vía puede estar regulado por la disponibilidad de sustrato A.

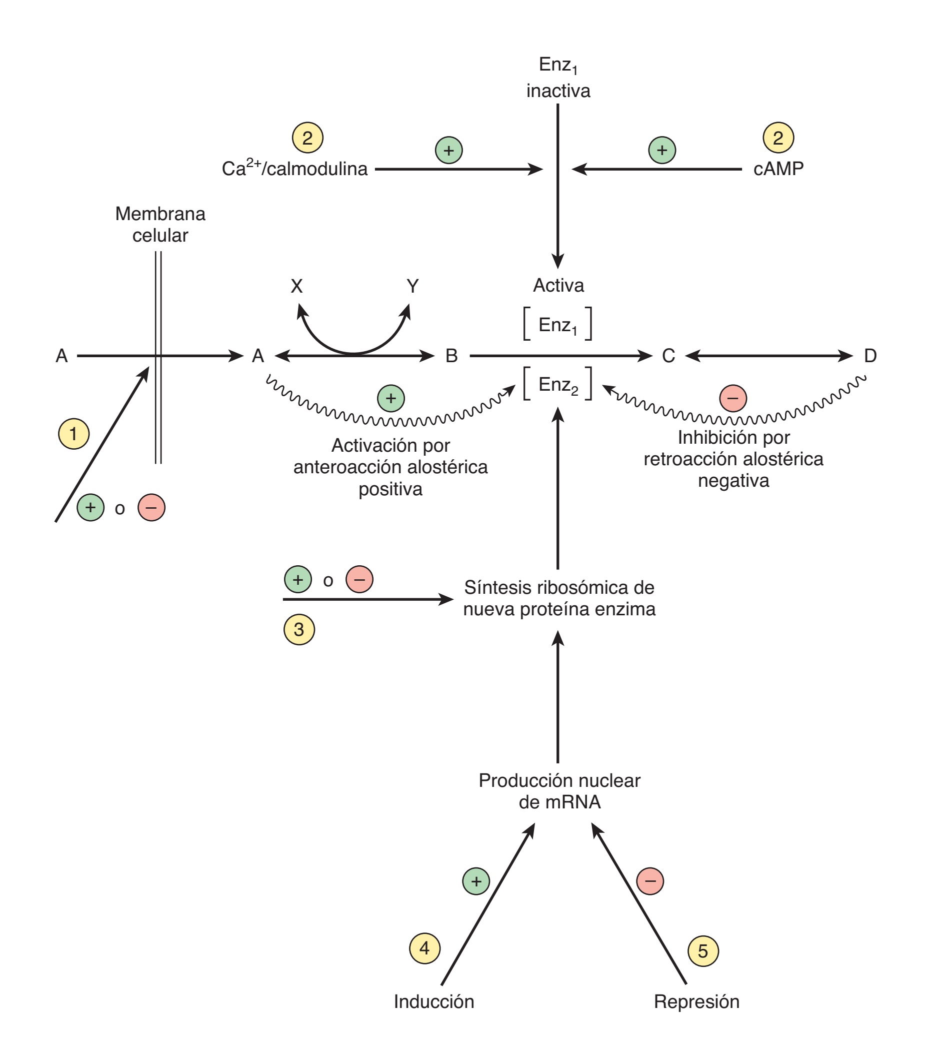


FIGURA 16–8 Mecanismos de control de una reacción catalizada por enzima. Los números encerrados en un círculo indican posibles sitios de acción de hormonas: ① alteración de la permeabilidad de membrana; ② conversión de una enzima inactiva en una activa, que por lo regular comprende reacciones de fosforilación/desfosforilación; ③ alteración del índice de traducción del mRNA en el ámbito ribosómico; ④ inducción de la formación de mRNA nuevo, y ⑤ represión de la formación de mRNA. ① y ② son vías rápidas, mientras que ③ a ⑤ son las vías más lentas de regulación de la actividad enzimática.

Esto depende de su aporte desde la sangre que, a su vez, depende de la ingestión de alimento o de reacciones clave que liberan sustratos desde reservas en los tejidos hacia el torrente sanguíneo, por ejemplo, glucógeno fosforilasa en el hígado (figura 19-1) y lipasa sensible a hormona en el tejido adiposo (figura 25-8). Asimismo, depende del transporte del sustrato A hacia la célula. El flujo también está determinado por la eliminación del producto terminal D y la disponibilidad de cosustratos o cofactores representados por Y y X. Las enzimas que catalizan reacciones no de equilibrio suelen ser proteínas alostéricas sujetas a las acciones rápidas de control por "retroacción" o "anteroacción" mediante **modificadores alostéricos**, en respuesta inmediata a las necesidades de las células (cap. 9). A menudo, el producto terminal de una vía biosintética inhibe la enzima que cataliza la primera reacción en la vía. Otros mecanismos de control dependen de la acción de **hormonas** que muestran respuesta a las necesidades del cuerpo en conjunto; pueden actuar con rapidez al alterar la actividad de moléculas de enzima existentes, o con lentitud al alterar el índice de síntesis de enzima (cap. 42).

MUCHOS COMBUSTIBLES METABÓLICOS SON INTERCONVERTIBLES

Los carbohidratos que exceden los requerimientos para metabolismo productor de energía inmediato y la formación de reservas de glucógeno en los músculos y el hígado pueden usarse con facilidad para la síntesis de ácidos grasos y, en consecuencia, de triacilglicerol, tanto en el tejido adiposo como en el hígado (desde donde se exporta en lipoproteínas de muy baja densidad). Aún no se dilucida del todo la importancia de la lipogénesis en seres humanos; en países occidentales la grasa en la dieta de las personas proporciona 35 a 45% de la ingestión de energía, mientras que en países menos desarrollados, donde los carbohidratos llegan a proporcionar 60 a 75% del ingreso de energía, la ingestión total de alimento es tan baja que hay poco excedente para la lipogénesis de cualquier modo. Una ingestión alta de grasa inhibe la lipogénesis en el tejido adiposo y el hígado.

No es posible emplear para la síntesis de glucosa a los ácidos grasos (y los cuerpos cetónicos formados a partir de ellos). La reacción de piruvato deshidrogenasa, que forma acetil-CoA, es irreversible, y por cada unidad de dos carbonos proveniente de acetil-CoA que entra al ciclo del ácido cítrico, hay una pérdida de dos átomos de carbono como dióxido de carbono antes de que vuelva a formarse oxaloacetato. Eso significa que la acetil-CoA (y, por ende, cualquier sustrato que la produzca) nunca puede usarse para la gluconeogénesis. Los ácidos grasos (relativamente raros) con un número impar de átomos de carbono dan propionil CoA como el producto del ciclo final de la β-oxidación, y ésta puede ser un sustrato para la gluconeogénesis, como puede serlo el glicerol liberado por medio de la lipólisis de reservas de triacilglicerol en el tejido adiposo.

Casi todos los aminoácidos que exceden los requerimientos para la síntesis de proteína (que surgen a partir de la dieta o a partir del recambio de proteína en los tejidos) dan piruvato, o intermediarios de 4 y 5 carbonos del ciclo del ácido cítrico (cap. 29). El piruvato se puede carboxilar hacia oxaloacetato, que es el sustrato primario para la gluconeogénesis, y los otros intermediarios del ciclo también dan por resultado un incremento neto de la formación de oxaloacetato, que entonces está disponible para gluconeogénesis. Estos aminoácidos se clasifican como **glucogénicos**. Dos aminoácidos (lisina y leucina) sólo dan acetil-CoA en el momento de la oxidación y, por consiguiente, no pueden emplearse para la gluconeogénesis, y otros cuatro (es decir, fenilalanina, tirosina, triptófano e isoleucina) dan lugar tanto a acetil-CoA como a intermediarios que pueden usarse para gluconeogénesis. Los aminoácidos que dan origen a acetil-CoA se denominan **cetogénicos**, porque en el ayuno y la inanición prolongados gran parte de la acetil-CoA se usa para la síntesis de cuerpos cetónicos en el hígado.

EN LOS ESTADOS TANTO DE ALIMENTACIÓN COMO DE AYUNO SE PROPORCIONA UN APORTE DE COMBUSTIBLES METABÓLICOS

El sistema nervioso central y los eritrocitos siempre necesitan glucosa

Los eritrocitos carecen de mitocondrias y, por tanto, en todo momento dependen por completo de la glucólisis (anaeróbica) y de la vía de la pentosa fosfato. El cerebro puede metabolizar cuerpos cetónicos para satisfacer alrededor de 20% de sus requerimientos de energía; el resto debe suministrarse mediante glucosa. Los cambios metabólicos que suceden en el estado de ayuno y en la inanición son las consecuencias de la necesidad de preservar la glucosa y las reservas limitadas de glucógeno en el hígado y los músculos para uso por el cerebro y los eritrocitos, y de asegurar el suministro de combustibles metabólicos alternativos para otros tejidos. En el embarazo el feto requiere una cantidad importante de glucosa, al igual que la síntesis de lactosa durante la lactación (**figura 16-9**).

En el estado posprandial, se depositan reservas de combustible metabólico

Durante varias horas luego de una comida, mientras se están absorbiendo los productos de la digestión, hay un aporte abundante de combustibles metabólicos. En estas condiciones, la glucosa es el principal combustible para la oxidación en casi todos los tejidos; esto se observa como un aumento del cociente respiratorio (la proporción de dióxido de carbono producido/oxígeno consumido) desde alrededor de 0.8 en el estado de ayuno hasta cerca de 1 (**cuadro 16-1**).

La captación de glucosa hacia el músculo y el tejido adiposo está controlada por la **insulina**, secretada por las células de los islotes β del páncreas en respuesta a un incremento de la concentración de glucosa en la sangre porta. En el estado de ayuno el transportador de glucosa del músculo y el tejido adiposo (GLUT-4) se encuentra en vesículas intracelulares. Una respuesta temprana a la insulina es la migración de estas vesículas hacia la superficie celular, donde se fusionan con la membrana plasmática, lo que expone transportadores de glucosa activos. Estos tejidos sensibles a insulina sólo captan glucosa a partir del torrente sanguíneo en cualquier grado importante en presencia de la hormona. A medida que la secreción de insulina disminuye en el

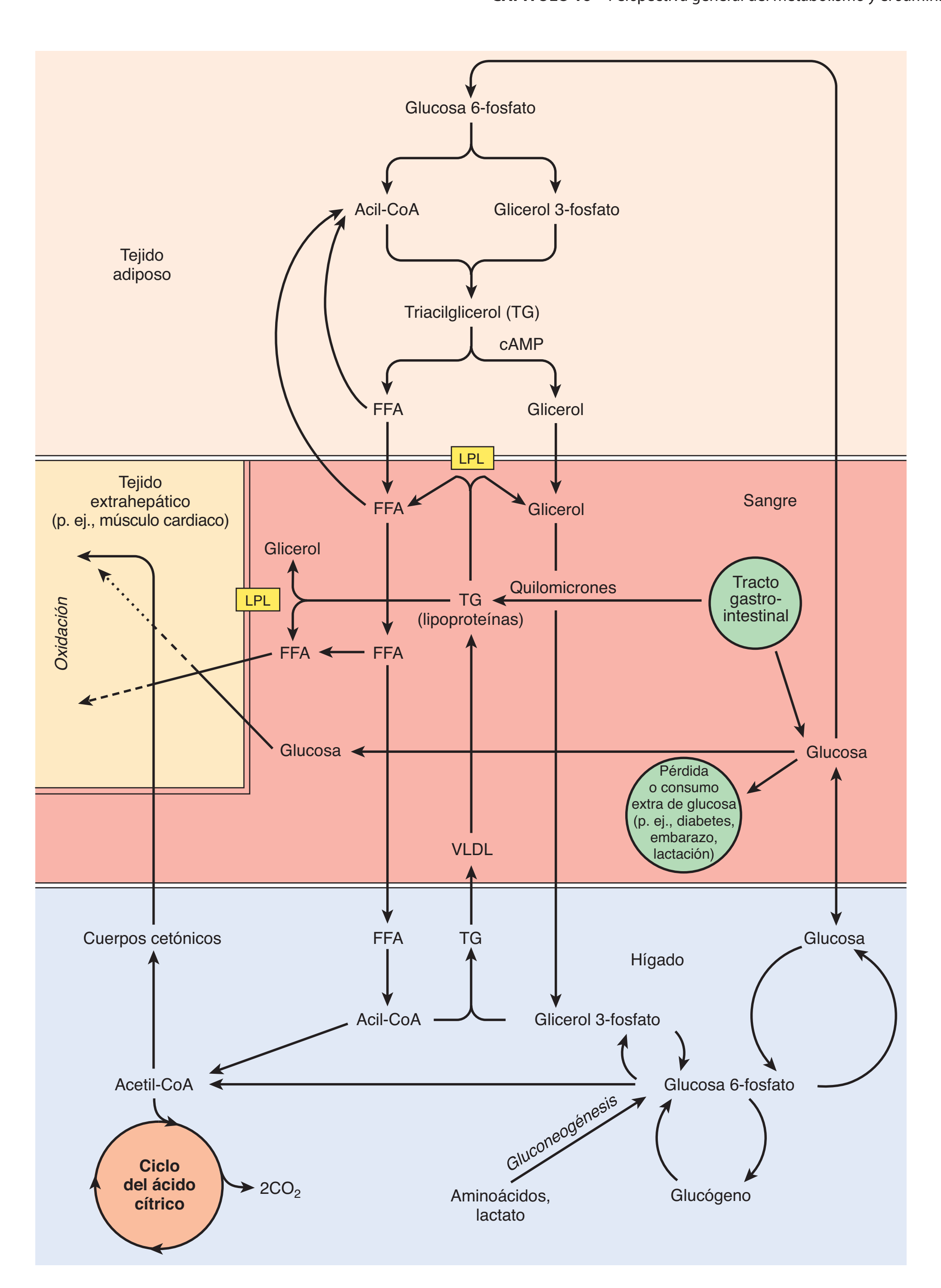


FIGURA 16–9 Interrelaciones metabólicas entre tejido adiposo, el hígado y tejidos extrahepáticos. En tejidos como el corazón, los combustibles metabólicos se oxidan en el orden de preferencia que sigue: cuerpos cetónicos > ácidos grasos > glucosa. (FFA, ácidos grasos libres; LPL, lipoproteína lipasa; VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad.)

CUADRO 16–1 Rendimientos de energía, consumo de oxígeno y producción de dióxido de carbono en la oxidación de combustibles metabólicos

	Rendimiento de energía (kJ/g)	O_2 consumido (L/g)	CO_2 producido (L/g)	RQ (CO_2 producido/ O_2 consumido)	Energía (kJ)/L O_2
Carbohidrato	16	0.829	0.829	1.00	20
Proteína	17	0.966	0.782	0.81	20
Grasa	37	2.016	1.427	0.71	20
Alcohol	29	1.429	0.966	0.66	20

estado de ayuno, los receptores también se internalizan de nuevo, lo que reduce la captación de glucosa. Sin embargo, en el músculo esquelético, el aumento de la concentración citoplasmática de ion calcio en respuesta a la estimulación nerviosa estimula la migración de las vesículas hacia la superficie celular, y la exposición de transportadores de glucosa activos sea que haya o no estimulación importante por insulina.

La captación de glucosa hacia el hígado es independiente de la insulina, pero el hígado tiene una isoenzima de la hexocinasa (glucocinasa) con una K_m alta, de modo que conforme aumentan las cifras de glucosa que entran al hígado, también lo hace el índice de síntesis de glucosa-6-fosfato. Esto excede el requerimiento del hígado de metabolismo productor de energía, y se usa principalmente para la síntesis de **glucógeno**. Tanto en el hígado como en el músculo estriado, la acción de la insulina estimula la glucógeno sintetasa e inhibe la glucógeno fosforilasa. Parte de la glucosa adicional que entra al hígado también puede emplearse para lipogénesis y, en consecuencia, para la síntesis de triacilglicerol. En el tejido adiposo, la insulina estimula la captación de glucosa, su conversión en ácidos grasos, y su esterificación hacia triacilglicerol. Inhibe la lipólisis intracelular y la liberación de ácidos grasos libres.

Los productos de la digestión de lípidos entran a la circulación como **quilomicrones**, las lipoproteínas plasmáticas de mayor tamaño, que tienen contenido en especial alto de triacilglicerol (cap. 25). En el tejido adiposo y el músculo estriado, la lipoproteína lipasa extracelular se sintetiza y activa en respuesta a la insulina; los ácidos grasos no esterificados resultantes son captados en su mayor parte por el tejido, y se usan para la síntesis de triacilglicerol, mientras que el glicerol permanece en el torrente sanguíneo y es captado por el hígado y usado para gluconeogénesis y síntesis de glucógeno o lipogénesis. El hígado capta los ácidos grasos que permanecen en el torrente sanguíneo, y vuelve a esterificarlos. Dicho órgano elimina los quilomicrones restantes que tienen agotamiento de lípido, y el triacilglicerol restante se exporta, junto con el que se sintetiza en el hígado, en **VLDL**.

En condiciones normales, el índice de catabolismo de proteína en los tejidos es más o menos constante durante todo el día; sólo en la **caquexia** que se relaciona con cáncer avanzado y otras enfermedades hay un incremento del índice de catabolismo de proteína. Hay catabolismo neto de proteína en el estado de ayuno, y síntesis neta de proteínas en el estado posprandial, cuando el índice de síntesis aumenta de 20 a 25%. De nuevo, el incremento del índice de síntesis de proteína en respuesta a aumento de la disponibilidad de aminoácidos y combustible metabólico, es una respuesta a la acción de la insulina. La síntesis de proteína es un proceso con alto costo de energía; puede explicar hasta 20% del gasto de energía en reposo después de una comida, pero sólo 9% en el estado de ayuno.

Las reservas de combustible metabólico se movilizan en el estado de ayuno

En el estado de ayuno hay un pequeño decremento de la glucosa plasmática, y luego poco cambio a medida que el ayuno se prolonga hacia inanición. Los ácidos grasos plasmáticos se incrementan en el ayuno, pero después aumentan poco más en la inanición; conforme se prolonga el ayuno, hay incremento notorio de la concentración plasmática de cuerpos cetónicos (acetoacetato y 3-hidroxibutirato) (**cuadro 16-2**, **figura 16-10**).

CUADRO 16–2 Cifras plasmáticas de combustibles metabólicos (mmol/L) en los estados posprandial y de ayuno

	Posprandial	Ayuno de 40 h	7 días de inanición
Glucosa	5.5	3.6	3.5
Ácidos grasos libres	0.30	1.15	1.19
Cuerpos cetónicos	Insignificante	2.9	4.5

En el estado de ayuno, a medida que las cifras de glucosa en la sangre porta se aminoran, también lo hace la secreción de insulina, y el músculo estriado y el tejido adiposo captan menos glucosa. El aumento de la secreción de **glucagón** por las células α del páncreas inhibe la glucógeno sintetasa, y activa la glucógeno fosforilasa en el hígado. La glucosa-6-fosfato resultante es hidrolizada por la glucosa-6-fosfatasa, y se libera glucosa hacia el torrente sanguíneo para uso por el cerebro y los eritrocitos.

El glucógeno muscular no puede contribuir de manera directa a la glucosa plasmática, puesto que el músculo carece de glucosa-6-fosfatasa, y el propósito primario del glucógeno muscular es proporcionar una fuente de glucosa-6-fosfato para metabolismo productor de energía en el músculo mismo. Aun así, la acetil-CoA formada por medio de oxidación de ácidos grasos en el músculo inhibe la piruvato deshidrogenasa, lo que da pie a una acumulación de piruvato; la mayor parte de éste es objeto de transaminación hacia alanina, a expensas de aminoácidos que surgen por desintegración de proteína muscular. La alanina —y gran parte de los cetoácidos originados por esta transaminación— se exportan desde el músculo y son captados por el hígado, donde la alanina sufre transaminación para producir

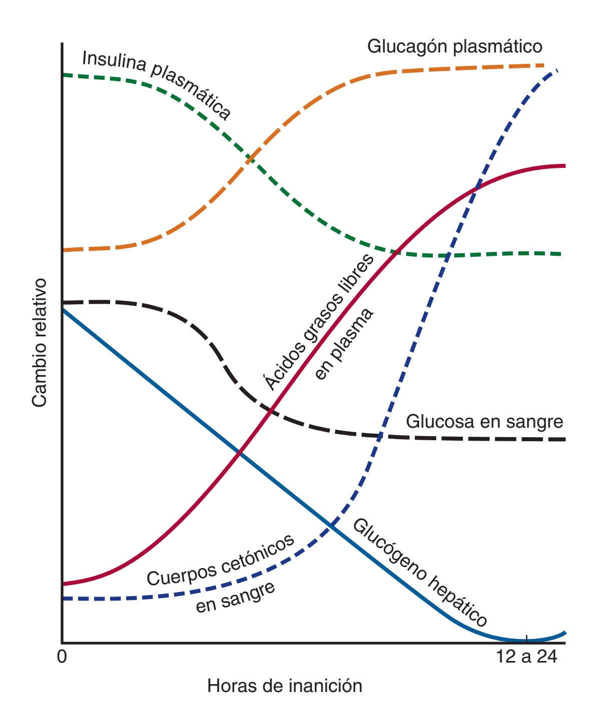


FIGURA 16–10 Cambios relativos de los parámetros metabólicos durante el comienzo de la inanición.

CUADRO 16–3 Resumen de las características metabólicas importantes de los principales órganos

Órgano	Principales vías	Principales sustratos	Principales productos exportados	Enzimas especializadas
Hígado	Glucólisis, gluconeogénesis, lipogénesis, β-oxidación, ciclo del ácido cítrico, cetogénesis, metabolismo de lipoproteína, metabolismo de fármacos, síntesis de sales biliares, urea, ácido úrico, colesterol, proteínas plasmáticas	Ácidos grasos libres, glucosa (en el estado posprandial), lactato, glicerol, fructosa, aminoácidos, alcohol	Glucosa, triacilglicerol en VLDL,[1] cuerpos cetónicos, urea, ácido úrico, sales biliares, colesterol, proteínas plasmáticas	Glucocinasa, glucosa-6-fosfatasa, glicerol cinasa, fosfoenolpiruvato carboxicinasa, fructocinasa, arginasa, HMG CoA sintasa, HMG CoA liasa, alcohol deshidrogenasa
Cerebro	Glucólisis, ciclo del ácido cítrico, metabolismo de aminoácidos, síntesis de neurotransmisor	Glucosa, aminoácidos, cuerpos cetónicos en inanición prolongada	Lactato, productos terminales del metabolismo de neurotransmisor	Aquellas que se usan para la síntesis y el catabolismo de neurotransmisores
Corazón	β-oxidación y ciclo del ácido cítrico	Cuerpos cetónicos, ácidos grasos libres, lactato, triacilglicerol de quilomicrón y de VLDL, algo de glucosa	—	Lipoproteína lipasa, cadena de transporte de electrones muy activa
Tejido adiposo	Lipogénesis, esterificación de ácidos grasos, lipólisis (en ayuno)	Glucosa, triacilglicerol de quilomicrón y de VLDL	Ácidos grasos libres, glicerol	Lipoproteína lipasa, lipasa sensible a hormona, enzimas de la vía de la pentosa fosfato
Músculo que se contrae con rapidez	Glucólisis	Glucosa, glucógeno	Lactato (alanina y cetoácidos en ayuno)	—
Músculo que se contrae con lentitud	β-oxidación y ciclo del ácido cítrico	Cuerpos cetónicos, triacilglicerol de quilomicrón y de VLDL	—	Lipoproteína lipasa, cadena de transporte de electrones muy activa
Riñón	Gluconeogénesis	Ácidos grasos libres, lactato, glicerol, glucosa	Glucosa	Glicerol cinasa, fosfoenolpiruvato carboxicinasa
Eritrocitos	Glucólisis anaeróbica, vía de la pentosa fosfato	Glucosa	Lactato	Hemoglobina, enzimas de la vía de la pentosa fosfato

[1] VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad.

piruvato. Los aminoácidos resultantes se exportan en su mayor parte de regreso al músculo, para proporcionar grupos amino para la formación de más alanina, mientras que el piruvato es un sustrato importante para gluconeogénesis en el hígado.

En el tejido adiposo la disminución de insulina y el incremento del glucagón suscitan inhibición de la lipogénesis, inactivación e internalización de la lipoproteína lipasa, y activación de lipasa sensible a hormona intracelular (cap. 25). Esto lleva a liberación desde el tejido adiposo de cantidades aumentadas de glicerol (que es un sustrato para la gluconeogénesis en el hígado) y ácidos grasos libres, que son usados por el hígado, el corazón y el músculo estriado como su combustible metabólico preferido, lo que, por ende, preserva la glucosa.

Aun cuando el músculo de preferencia capta y metaboliza ácidos grasos libres en el estado de ayuno, no puede satisfacer todos sus requerimientos de energía mediante β-oxidación. En contraste, el hígado tiene una mayor capacidad de β-oxidación que la que se necesita para satisfacer sus propias necesidades de energía, y conforme el ayuno se torna más prolongado, forma más acetil-CoA que la que puede oxidarse. Esta acetil-CoA se usa para sintetizar los **cuerpos cetónicos** (cap. 22), que son importantes combustibles metabólicos para los músculos estriado y cardiaco, y puede satisfacer hasta 20% de las necesidades de energía del cerebro. En la inanición prolongada, la glucosa llega a representar menos de 10% del metabolismo productor de energía de todo el cuerpo.

En ausencia de otra fuente de glucosa, el glucógeno hepático y muscular se agotaría luego de alrededor de 18 h de ayuno. A medida que el ayuno se hace más prolongado, una cantidad cada vez mayor de los aminoácidos que se liberan como resultado del catabolismo de proteína se utiliza en el hígado y los riñones para gluconeogénesis (**cuadro 16-3**).

ASPECTOS CLÍNICOS

En la inanición prolongada, conforme se agotan las reservas de tejido adiposo, hay un incremento muy considerable del índice neto de catabolismo de proteína para proporcionar aminoácidos, no sólo como sustratos para la gluconeogénesis, sino también como el principal combustible metabólico de todos los tejidos. La muerte se produce cuando proteínas hísticas esenciales se catabolizan y no se remplazan. En enfermos con **caquexia** como resultado de la liberación de **citocinas** en respuesta a tumores, y varios otros estados patológicos, hay un aumento del índice de catabolismo de proteína hística, así como incremento considerable del índice metabólico, de modo que se encuentran en estado de inanición avanzada. De nuevo, la muerte sobreviene cuando proteínas hísticas esenciales se catabolizan y no son remplazadas.

La alta demanda de glucosa por el feto, y para la síntesis de lactosa durante la lactación, puede llevar a cetosis. Esto llega a observarse como cetosis leve con hipoglucemia en seres humanos; en ganado vacuno en lactación y en ovejas que portan una gestación gemelar, puede haber cetoacidosis muy pronunciada e hipoglucemia profunda.

En la **diabetes mellitus** tipo 1 mal controlada, los pacientes llegan a presentar hiperglucemia, en parte como resultado de falta de insulina para estimular la captación y utilización de glucosa, y en parte porque en ausencia de insulina hay aumento de la gluconeogénesis a partir de aminoácidos en el hígado. Al mismo tiempo, la falta de insulina ocasiona incremento de la lipólisis en el tejido adiposo, y los ácidos grasos libres resultantes son sustratos para la cetogénesis en el hígado.

La utilización de estos cuerpos cetónicos en el músculo (y en otros tejidos) puede estar alterada debido a la falta de oxaloacetato (todos los tejidos tienen un requerimiento de algo de metabolismo de glucosa para mantener una cantidad adecuada de oxaloacetato para la actividad del ciclo del ácido cítrico). En la diabetes no controlada, la cetosis puede ser lo bastante grave como para dar por resultado acidosis **(cetoacidosis)** pronunciada dado que el acetoacetato y el 3-hidroxibutirato son ácidos relativamente fuertes. El coma se produce tanto por la acidosis como por el aumento considerable de la osmolalidad del líquido extracelular (principalmente como resultado de hiperglucemia, y diuresis originada por la excreción de glucosa y cuerpos cetónicos en la orina).

RESUMEN

- Los productos de la digestión proporcionan a los tejidos los bloques de construcción para la biosíntesis de moléculas complejas y el combustible para los procesos metabólicos.
- Casi todos los productos de la digestión de carbohidratos, grasas y proteínas se metabolizan hacia un metabolito común, la acetil-CoA, antes de oxidación hacia CO_2 en el ciclo del ácido cítrico.
- La acetil-CoA también es el precursor para la síntesis de ácidos grasos de cadena larga y esteroides, incluso colesterol y cuerpos cetónicos.
- La glucosa proporciona esqueletos de carbono para el glicerol de triacilgliceroles y aminoácidos no esenciales.
- Los productos hidrosolubles de la digestión son transportados directamente al hígado por medio de la vena porta hepática. El hígado regula las concentraciones sanguíneas de glucosa y aminoácidos. Los lípidos y los productos liposolubles de la digestión entran al torrente sanguíneo desde el sistema linfático, y el hígado elimina los remanentes después de que los tejidos extrahepáticos han captado ácidos grasos.
- Las vías están compartimentadas dentro de la célula. La glucólisis, glucogénesis, glucogenólisis, la vía de la pentosa fosfato y la lipogénesis ocurren en el citosol. Las mitocondrias contienen las enzimas del ciclo del ácido cítrico, β-oxidación de ácidos grasos, y la cadena respiratoria y la ATP sintasa. Las membranas del retículo endoplásmico contienen las enzimas para varios otros procesos, entre ellos la síntesis de triacilglicerol y el metabolismo de fármacos.
- Las vías metabólicas están reguladas por mecanismos rápidos que afectan la actividad de las enzimas existentes, esto es, modificación alostérica y covalente (a menudo en respuesta a la acción de hormona), y mecanismos lentos que afectan la síntesis de enzimas.
- Los carbohidratos y aminoácidos de la dieta que exceden los requerimientos pueden usarse para la síntesis de ácidos grasos y, por consiguiente, de triacilglicerol.
- En el ayuno y la inanición, debe proporcionarse glucosa para el cerebro y los eritrocitos; en el estado de ayuno temprano, esto se suministra a partir de las reservas de glucógeno. Para preservar la glucosa, el músculo y otros tejidos no la captan cuando la secreción de insulina es baja; utilizan ácidos grasos (y más tarde cuerpos cetónicos) como su combustible preferido.
- En el estado de ayuno, el tejido adiposo libera ácidos grasos libres; en el ayuno y la inanición prolongados el hígado los usa para síntesis de cuerpos cetónicos, que se exportan para proporcionar el principal combustible para el músculo.
- Casi todos los aminoácidos, provenientes de la dieta o del recambio de proteína en los tejidos, pueden emplearse para gluconeogénesis, al igual que el glicerol proveniente del triacilglicerol.
- Ni los ácidos grasos —derivados de la dieta o de lipólisis de triacilglicerol del tejido adiposo— ni los cuerpos cetónicos —formados a partir de ácidos grasos en el estado de ayuno— pueden proporcionar sustratos para la gluconeogénesis.

REFERENCIAS

Bender DA: *Introduction to Nutrition and Metabolism,* 4th ed. CRC Press, 2007.

Brosnan JT: Comments on the metabolic needs for glucose and the role of gluconeogenesis. Eur J Clin Nutr 1999;53:S107–S111.

Frayn KN: Integration of substrate flow in vivo: some insights into metabolic control. Clin Nutr 1997;16:277–282.

Frayn KN: *Metabolic Regulation: A Human Perspective,* 3rd ed. Wiley-Blackwell, 2010.

Zierler K: Whole body metabolism of glucose. Am J Physiol 1999;276:E409–E426.

El ciclo del ácido cítrico: el catabolismo de la acetil-CoA

CAPÍTULO

17

David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir las reacciones del ciclo del ácido cítrico y las reacciones que llevan a la producción de equivalentes reductores que son oxidados en la cadena de transporte de electrones mitocondrial para dar ATP.
- Explicar la importancia de las vitaminas en el ciclo del ácido cítrico.
- Explicar cómo el ciclo del ácido cítrico proporciona tanto una ruta para el catabolismo de aminoácidos como una ruta para su síntesis.
- Describir las principales vías anapleróticas que permiten el reabastecimiento de intermediarios del ciclo del ácido cítrico, y cómo está controlado el retiro de oxaloacetato para gluconeogénesis.
- Describir el papel del ciclo del ácido cítrico en la síntesis de ácidos grasos.
- Explicar cómo la actividad del ciclo del ácido cítrico está controlada por la disponibilidad de cofactores oxidados.
- Explicar cómo la hiperamonemia puede llevar a pérdida del conocimiento.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El ciclo del ácido cítrico (ciclo de Krebs, ciclo del ácido tricarboxílico) es una secuencia de reacciones en las mitocondrias que oxidan la porción acetilo de la acetil-CoA, y reducen coenzimas que se reoxidan por medio de la cadena de transporte de electrones, enlazada a la formación de ATP.

El ciclo del ácido cítrico es la vía común final para la oxidación de carbohidratos, lípidos y proteínas porque la glucosa, los ácidos grasos y casi todos los aminoácidos se metabolizan hacia acetil-CoA o intermediarios del ciclo. También tiene una función fundamental en la gluconeogénesis, lipogénesis e interconversión de aminoácidos. Muchos de estos procesos ocurren en casi todos los tejidos, pero el hígado es el único tejido en el cual todos suceden en un grado significativo. En consecuencia, hay profundas repercusiones cuando, por ejemplo, grandes números de células hepáticas quedan dañadas, como en la **hepatitis** aguda, o remplazadas por tejido conjuntivo (como en la **cirrosis**). Los pocos defectos genéticos de las enzimas del ciclo del ácido cítrico que se han informado se relacionan con daño neurológico grave como resultado de alteración muy considerable de la formación de ATP en el sistema nervioso central.

La hiperamonemia, como ocurre en la enfermedad hepática avanzada, lleva a pérdida del conocimiento, coma y convulsiones como resultado de actividad alterada del ciclo del ácido cítrico, lo que lleva a formación reducida de ATP. El amoniaco disminuye intermediarios del ciclo del ácido cítrico (al retirar el α-cetoglutarato para la formación de glutamato y glutamina), e inhibe también la descarboxilación oxidativa del α-cetoglutarato.

EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO PROPORCIONA SUSTRATO PARA LA CADENA RESPIRATORIA

El ciclo empieza con la reacción entre la porción acetilo de la acetil-CoA y el ácido dicarboxílico de cuatro carbonos oxaloacetato, lo que forma un ácido tricarboxílico de seis carbonos, el citrato. En las reacciones subsiguientes, se liberan dos moléculas de CO_2, y se regenera el oxaloacetato (**figura 17-1**). Sólo se requiere una pequeña cantidad de oxaloacetato para la oxidación de una gran cantidad de acetil-CoA; puede considerarse que desempeña una **función catalítica**, ya que es regenerada al final del ciclo.

El ciclo del ácido cítrico es una parte integral del proceso mediante el cual se pone a disposición gran parte de la energía libre liberada en el transcurso de la oxidación de combustibles. Durante la oxidación de acetil-CoA, las coenzimas se reducen y después se reoxidan en la cadena respiratoria, enlazadas a la formación de ATP (fosforilación oxidativa, **figura 17-2**; cap. 13). Este proceso es **aerobio**; requiere oxígeno como el oxidante final

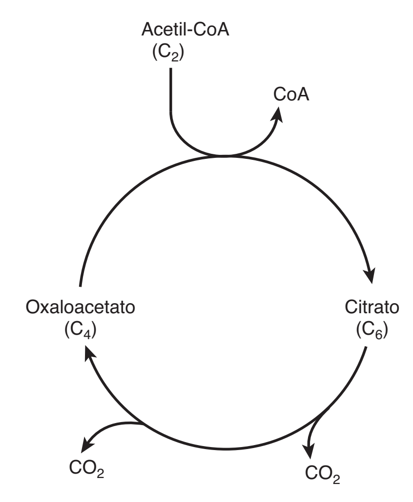


FIGURA 17–1 **El ciclo del ácido cítrico, que ilustra el papel catalítico del oxaloacetato.**

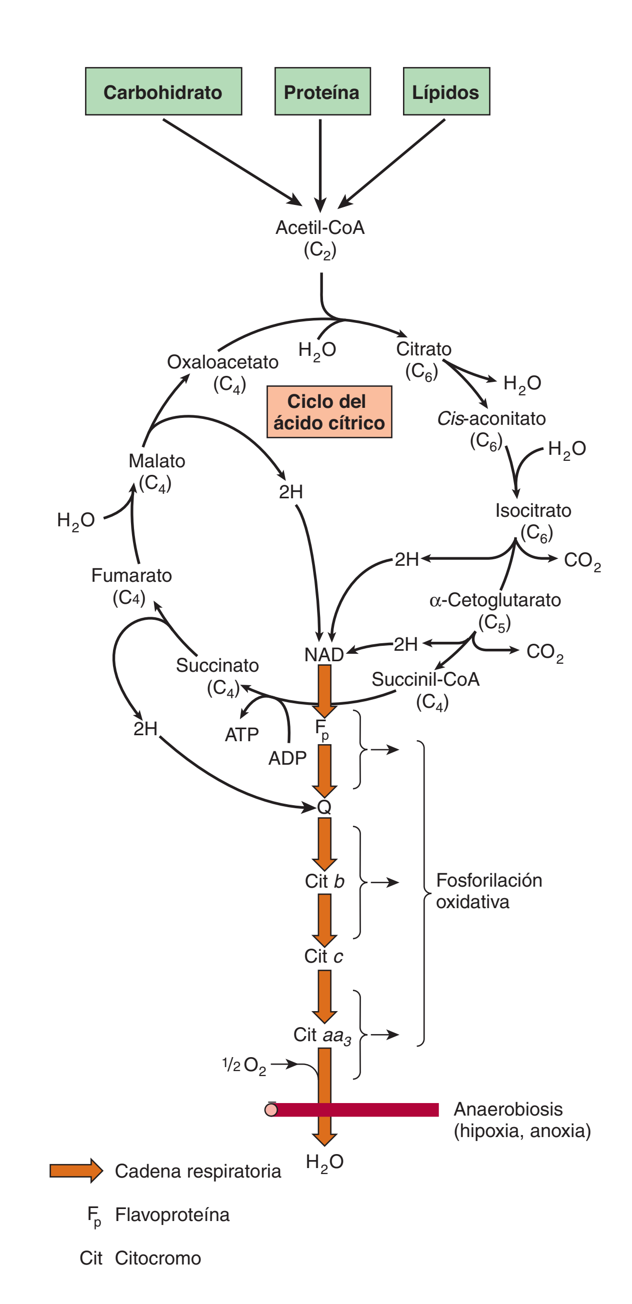


FIGURA 17–2 **El ciclo del ácido cítrico: la principal vía catabólica para la acetil-CoA en organismos aeróbicos.** La acetil-CoA, el producto del catabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos, es captada hacia el ciclo y oxidada hacia CO_2, con la liberación de equivalentes reductores (2H). La oxidación subsiguiente de 2H en la cadena respiratoria lleva a fosforilación de ADP hacia ATP. Para una vuelta del ciclo, se generan nueve ATP por medio de fosforilación oxidativa, y surge un ATP (o GTP) en el ámbito de sustrato a partir de la conversión de succinil-CoA en succinato.

de las coenzimas reducidas. Las enzimas del ciclo del ácido cítrico están ubicadas en la **matriz mitocondrial**, libres o fijas a la membrana mitocondrial interna y la membrana de las crestas, donde también se encuentran las enzimas y coenzimas de la cadena respiratoria (cap. 13).

LAS REACCIONES DEL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO LIBERAN EQUIVALENTES REDUCTORES Y CO_2

La reacción inicial entre la acetil-CoA y el oxaloacetato para formar citrato está catalizada por la **citrato sintasa**, que forma un enlace de carbono-carbono entre el carbono metilo de la acetil-CoA y el carbono carbonilo del oxaloacetato (**figura 17-3**). El enlace tioéster de la citril-CoA resultante se hidroliza, lo que libera citrato y CoASH, una reacción exotérmica.

La enzima **aconitasa** (aconitato hidratasa) isomeriza el citrato hacia isocitrato; la reacción ocurre en dos pasos: deshidratación hacia *cis*-aconitato, y rehidratación hacia isocitrato. Aun cuando el citrato es una molécula simétrica, con la aconitasa reacciona de manera asimétrica, de modo que los dos átomos de carbono que se pierden en reacciones subsiguientes del ciclo no son los que se añadieron provenientes de la acetil-CoA. Tal conducta asimétrica depende de **canalización**: transferencia del producto de la citrato sintasa de manera directa hacia el sitio activo de la aconitasa, sin entrar en solución libre. Esto proporciona integración de la actividad del ciclo del ácido cítrico y el suministro de citrato en el citosol como una fuente de acetil-CoA para la síntesis de ácido graso. El citrato sólo está disponible en solución libre para ser transportado desde las mitocondrias hacia el citosol para la síntesis de ácidos grasos cuando la aconitasa es inhibida por la acumulación de su producto, el isocitrato.

El veneno **fluoroacetato** se encuentra en algunos vegetales y su consumo puede ser mortal para animales que pastan. Algunos compuestos fluorados que se usan como agentes anticáncer y como sustancias químicas industriales (incluso plaguicidas) se metabolizan hacia fluoroacetato. El veneno fluoroacetato es tóxico porque la fluoroacetil-CoA se condensa con oxaloacetato para formar fluorocitrato, que inhibe la aconitasa, lo que hace que se acumule citrato.

El isocitrato pasa por deshidrogenación catalizada por la **isocitrato deshidrogenasa** para formar, en un inicio, oxalosuccinato,

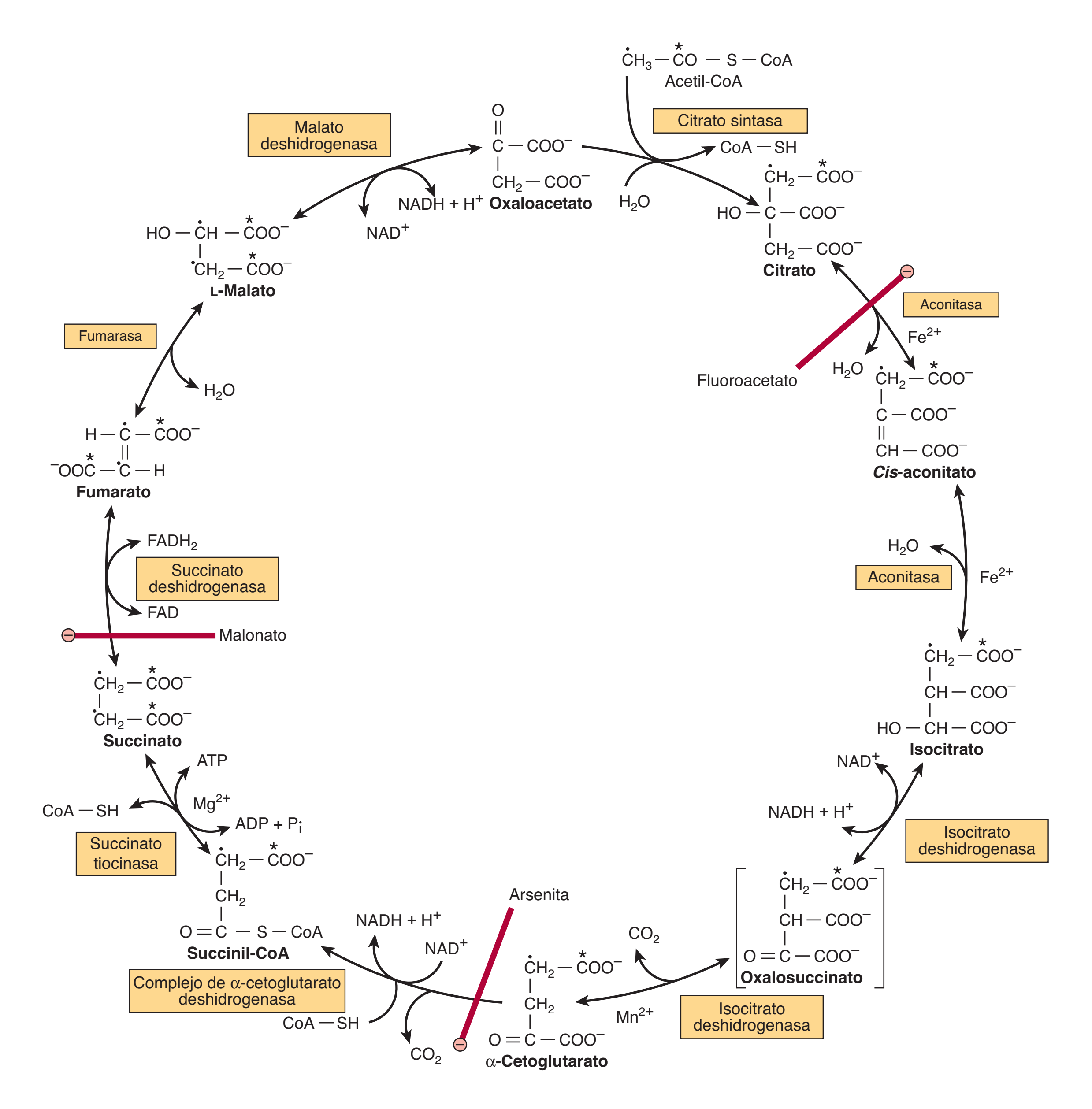


FIGURA 17–3 **El ciclo del ácido cítrico (de Krebs).** La oxidación de NADH y $FADH_2$ en la cadena respiratoria lleva a la formación de ATP por medio de fosforilación oxidativa. Para seguir el paso de la acetil-CoA por el ciclo, los dos átomos de carbono del radical acetilo se muestran marcados en el carbono carboxilo (*) y en el carbono metilo (·). Aunque dos átomos de carbono se pierden como CO_2 en una vuelta del ciclo, estos átomos no se derivan de la acetil-CoA que ha entrado inmediatamente al ciclo, sino de la porción de la molécula de citrato que se derivó del oxaloacetato. Sin embargo, cuando se completa una vuelta única del ciclo, el oxaloacetato que se regenera ahora está marcado, lo que lleva a que se forme CO_2 marcado durante la segunda vuelta del ciclo. Debido a que el succinato es un compuesto simétrico, en este paso ocurre "aleatorización" de la marca, de modo que los cuatro átomos de carbono del oxaloacetato parecen estar marcados después de una vuelta del ciclo. Durante la gluconeogénesis, parte de la marca en el oxaloacetato es incorporada hacia glucosa y glucógeno (figura 20-1). Se indican los sitios de inhibición (⊖) por fluoroacetato, malonato y arsenita.

que permanece unido a enzima y pasa por descarboxilación hacia α-cetoglutarato. La descarboxilación requiere iones Mg^{2+} o Mn^{2+}. La isocitrato deshidrogenasa tiene tres isoenzimas. Una, que usa NAD^+, sólo se encuentra en mitocondrias; las otras dos usan $NADP^+$ y se ubican en las mitocondrias y en el citosol. La oxidación del isocitrato enlazada a la cadena respiratoria procede casi por completo por medio de la enzima dependiente de NAD^+.

El α-cetoglutarato pasa por **descarboxilación oxidativa** en una reacción catalizada por un complejo de múltiples enzimas similar al involucrado en la descarboxilación oxidativa del piruvato (figura 18-5). El **complejo de α-cetoglutarato deshidrogenasa** requiere los mismos cofactores que el complejo de piruvato deshidrogenasa —difosfato de tiamina, lipoato, NAD^+, FAD y CoA— y origina la formación de succinil-CoA. El equilibrio de esta reacción favorece a tal grado la formación de succinil-CoA,

que debe considerarse unidireccional desde el punto de vista fisiológico. Como sucede con la oxidación del piruvato (cap. 18), la arsenita inhibe la reacción, lo que hace que se acumule el sustrato, **α-cetoglutarato**. Altas concentraciones de amoniaco inhiben la deshidrogenasa de α-cetoglutarato.

La succinil-CoA se convierte en succinato mediante la enzima **succinato tiocinasa (succinil-CoA sintetasa)**; se trata del único ejemplo en el ciclo del ácido cítrico de fosforilación en el ámbito de sustrato. Los tejidos en los cuales ocurre gluconeogénesis (el hígado y los riñones) contienen dos isoenzimas de succinato tiocinasa, una específica para difosfato de guanosina (guanosín difosfato; GDP) y la otra para ADP. El trifosfato de guanosina (guanosín trifosfato; GTP) formado se usa para la descarboxilación de oxaloacetato hacia fosfoenolpiruvato en la gluconeogénesis, y proporciona un enlace regulador entre la actividad del ciclo del ácido cítrico y el retiro de oxaloacetato para la gluconeogénesis. Los tejidos no gluconeogénicos sólo tienen la isoenzima que usa ADP.

Cuando los cuerpos cetónicos se están metabolizando en tejidos extrahepáticos, hay una reacción alternativa catalizada por la **succinil-CoA-acetoacetato-CoA transferasa** (**tioforasa**), que comprende transferencia de CoA desde la succinil-CoA hacia el acetoacetato, lo que forma acetoacetil-CoA y succinato (cap. 22).

El metabolismo anterógrado de succinato, que lleva a la regeneración de oxaloacetato, es la misma secuencia de reacciones químicas que ocurre en la β-oxidación de ácidos grasos: deshidrogenación para formar un doble enlace de carbono-carbono, adición de agua para formar un grupo hidroxilo, y deshidrogenación adicional para dar el grupo oxo del oxaloacetato.

La primera reacción de deshidrogenación, que forma fumarato, es catalizada por la **succinato deshidrogenasa**, que está unida a la superficie interna de la membrana mitocondrial interna. La enzima contiene FAD y proteína hierro-azufre (Fe:S), y reduce de manera directa la ubiquinona en la cadena de transporte de electrones. La **fumarasa (fumarato hidratasa)** cataliza la adición de agua a través del doble enlace del fumarato, lo que produce malato. La malato deshidrogenasa convierte a este último en oxaloacetato, una reacción que requiere NAD^+. Aunque el equilibrio de esta reacción favorece con fuerza al malato, el flujo neto es hacia el oxaloacetato debido a la eliminación continua de este último (para formar citrato, como un sustrato para la gluconeogénesis, o para pasar por transaminación hacia aspartato), y a la reoxidación continua de NADH.

POR CADA VUELTA DEL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO SE FORMAN 10 ATP

Como resultado de oxidaciones catalizadas por las deshidrogenasas del ciclo del ácido cítrico, se producen tres moléculas de NADH y una de $FADH_2$ por cada molécula de acetil-CoA catabolizada en una vuelta del ciclo. Estos equivalentes reductores se transfieren hacia la cadena respiratoria (figura 13-3), donde la reoxigenación de cada NADH origina la formación de ~2.5 ATP, y de $FADH_2$, ~1.5 ATP. Además, 1 ATP (o GTP) se forma mediante fosforilación en el ámbito de sustrato catalizada por la succinato tiocinasa.

LAS VITAMINAS DESEMPEÑAN FUNCIONES CLAVE EN EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO

Cuatro de las vitaminas B (cap. 44) son esenciales en el ciclo del ácido cítrico y, por ende, en el metabolismo productor de energía: 1) la **riboflavina**, en forma de flavina adenina dinucleótido (FAD), un cofactor para la succinato deshidrogenasa; 2) **niacina**, en forma de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD), el aceptor de electrón para la isocitrato deshidrogenasa, α-cetoglutarato deshidrogenasa, y malato deshidrogenasa; 3) tiamina (**vitamina B_1**), como difosfato de tiamina, la coenzima para la descarboxilación en la reacción de α-cetoglutarato deshidrogenasa, y 4) **ácido pantoténico**, como parte de la coenzima A, el cofactor fijo a residuos ácido carboxílicos "activos" como acetil-CoA y succinil-CoA.

EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO DESEMPEÑA UNA FUNCIÓN CRUCIAL EN EL METABOLISMO

El ciclo del ácido cítrico no sólo es una vía para la oxidación de unidades de dos carbonos, sino que también es una vía importante para la interconversión de metabolitos que surgen por **transaminación** y **desaminación** de aminoácidos (caps. 28 y 29), y proporciona los sustratos para la **síntesis de aminoácidos** mediante transaminación (cap. 27), así como para **gluconeogénesis** (cap. 20) y **síntesis de ácidos grasos** (cap. 23). Dado que funciona en procesos tanto oxidativos como sintéticos, es **anfibólico** (**figura 17-4**).

El ciclo del ácido cítrico participa en la gluconeogénesis, transaminación y desaminación

Todos los intermediarios del ciclo son en potencia **glucogénicos**, porque pueden dar lugar a oxaloacetato y, por ende, a producción neta de glucosa (en hígado y riñones, los órganos que realizan la gluconeogénesis; cap. 20). La enzima clave que cataliza la transferencia neta hacia afuera del ciclo hacia la gluconeogénesis es la **fosfoenolpiruvato carboxicinasa**, la cual cataliza la descarboxilación de oxaloacetato hacia fosfoenolpiruvato; el GTP actúa como el donador de fosfato (figura 20-1). El GTP que se requiere para esta reacción es proporcionado (en el hígado y los riñones) por la isoenzima dependiente de GDP de la succinato tirosinasa. Esto asegura que el oxaloacetato no se retire del ciclo para gluconeogénesis si esto llevaría a la disminución de intermediarios del ciclo del ácido cítrico y, por ende, generación reducida de ATP.

La transferencia neta hacia el ciclo ocurre como resultado de varias reacciones. Entre las más importantes de esas reacciones **anapleróticas**, está la formación de oxaloacetato mediante la carboxilación de piruvato, catalizada por la **piruvato carboxilasa**. Esta reacción es importante para mantener una concentración adecuada de oxaloacetato para la reacción de condensación con acetil-CoA. Si esta última se acumula, actúa como activador

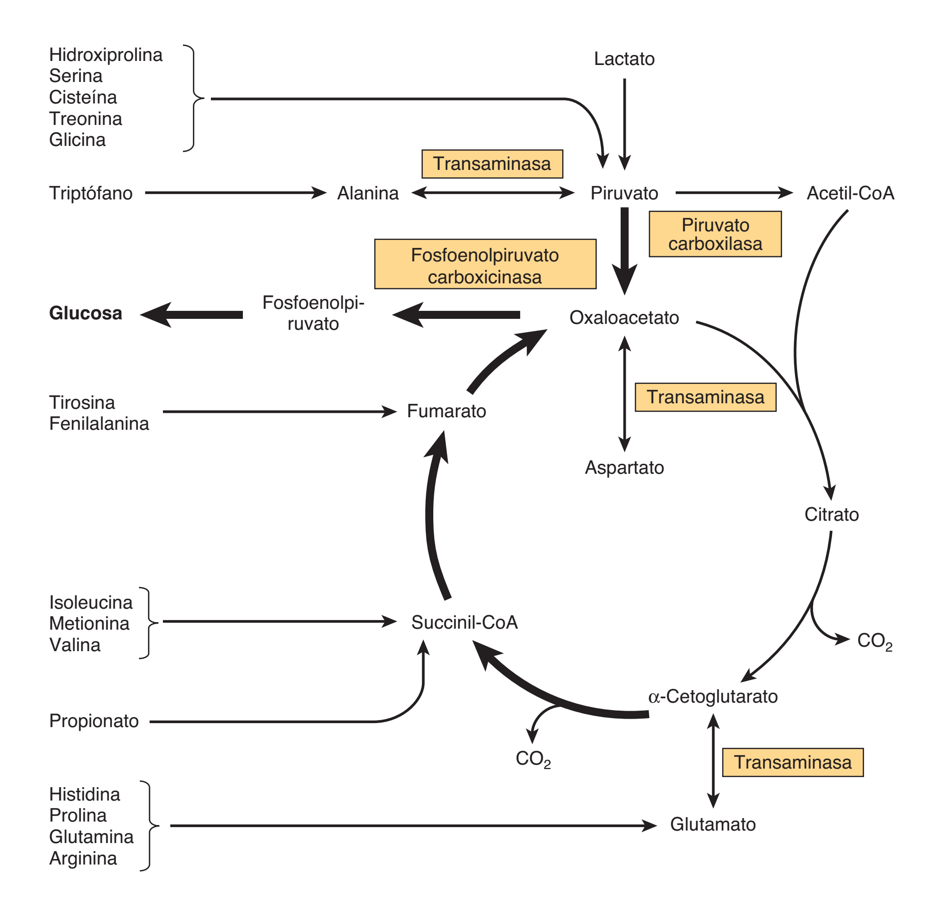


FIGURA 17–4 **Participación del ciclo del ácido cítrico en la transaminación y la gluconeogénesis.** Las flechas gruesas indican la principal vía de la gluconeogénesis.

alostérico de la piruvato carboxilasa y como inhibidor de la piruvato deshidrogenasa, lo que asegura un aporte de oxaloacetato. El lactato, un importante sustrato para la gluconeogénesis, entra al ciclo por medio de oxidación hacia piruvato y después carboxilación hacia oxaloacetato. El **glutamato** y la **glutamina** son sustratos anapleróticos importantes porque dan α-cetoglutarato como resultado de las reacciones catalizadas por la glutaminasa y la glutamato deshidrogenasa. La transaminación de **aspartato** lleva directamente a la formación de oxaloacetato, y diversos compuestos que son metabolizados para dar **propionil CoA**, que puede ser carboxilada e isomerizada a succinil CoA, también son sustratos anapleróticos importantes.

Las reacciones de **aminotransferasa** (transaminasa) forman piruvato a partir de alanina, oxaloacetato a partir de aspartato, y α-cetoglutarato a partir de glutamato. Dado que estas reacciones son reversibles, el ciclo también sirve como una fuente de esqueletos de carbono para la síntesis de estos aminoácidos. Otros aminoácidos contribuyen a la gluconeogénesis porque sus esqueletos de carbono dan origen a intermediarios del ciclo del ácido cítrico. La alanina, cisteína, glicina, hidroxiprolina, serina, treonina y triptófano dan piruvato; la arginina, histidina, glutamina y prolina dan α-cetoglutarato; la isoleucina, metionina y valina dan succinil-CoA; la tirosina y fenilalanina dan fumarato (figura 17-4).

El ciclo del ácido cítrico en sí no proporciona una vía para la oxidación completa de esqueletos de carbono de aminoácidos que dan lugar a intermediarios como α-cetoglutarato, succinil-CoA, fumarato y oxaloacetato, porque esto resulta en un incremento de la cantidad de oxaloacetato. Para que ocurra oxidación completa, el oxaloacetato debe pasar por fosforilación y carboxilación a fosfoenolpiruvato (a expensas de GTP) y después por desfosforilación hacia piruvato (catalizada por la piruvato cinasa) y descarboxilación oxidativa hacia acetil CoA (catalizada por la piruvato deshidrogenasa).

En rumiantes, cuyo principal combustible metabólico son los ácidos grasos de cadena corta formados mediante fermentación bacteriana, tiene especial importancia la conversión de propionato, el principal producto glucogénico de la fermentación en el rumen, en succinil-CoA por medio de la vía de la metilmalonil-CoA (figura 20-2).

El ciclo del ácido cítrico participa en la síntesis de ácidos grasos

La acetil-CoA, formada a partir del piruvato mediante la acción de la piruvato deshidrogenasa, es el principal sustrato para la síntesis de ácidos grasos de cadena larga en no rumiantes (**figura 17-5**). (En rumiantes, la acetil-CoA se deriva de manera directa del acetato.) La piruvato deshidrogenasa es una enzima mitocondrial, y la síntesis de ácidos grasos es una vía citosólica; la membrana mitocondrial es impermeable a acetil-CoA; esta última se pone a disposición en el citosol a partir del citrato sintetizado

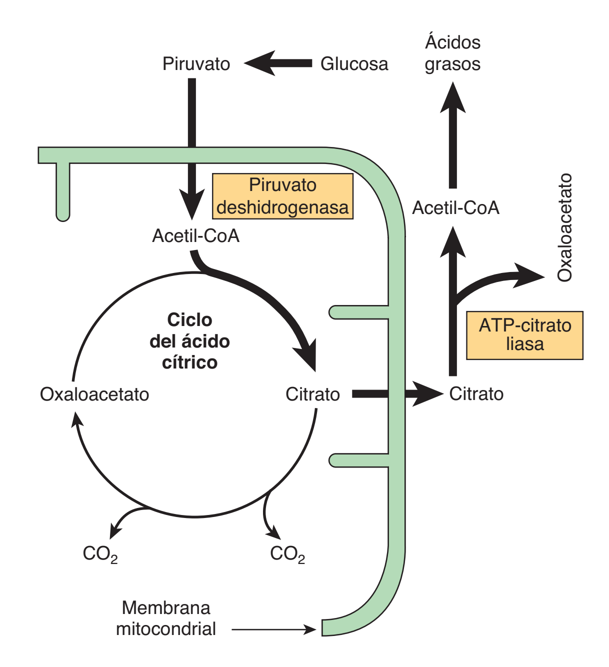


FIGURA 17–5 Participación del ciclo del ácido cítrico en la síntesis de ácidos grasos a partir de glucosa. Véase también la figura 23-5.

en la mitocondria, transportado hacia el citosol, y dividido en una reacción catalizada por la **ATP-citrato liasa** (figura 17-5). El citrato sólo está disponible para transporte hacia afuera de la mitocondria cuando la aconitasa es inhibida por su producto y, por ende, saturada con su sustrato, de modo que el citrato no puede canalizarse directamente desde la citrato sintasa hacia la aconitasa. Esto asegura que el citrato se use para la síntesis de ácidos grasos sólo cuando hay una cantidad adecuada para asegurar actividad continua del ciclo.

La regulación del ciclo del ácido cítrico depende principalmente de un aporte de cofactores oxidados

En casi todos los tejidos, donde la función primaria del ciclo del ácido cítrico yace en el metabolismo productor de energía, el **control respiratorio** por medio de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa regula la actividad del ciclo del ácido cítrico (cap. 13). De este modo, la actividad es inmediatamente dependiente del aporte de NAD^+ que, a su vez, debido al estrecho acoplamiento entre la oxidación y fosforilación, depende de la disponibilidad de ADP y, por ende, finalmente del índice de utilización de ATP en trabajo químico y físico. Además, enzimas individuales del ciclo están reguladas. Los sitios más probables para regulación son las reacciones no de equilibrio catalizadas por la piruvato deshidrogenasa, citrato sintasa, isocitrato deshidrogenasa y α-cetoglutarato deshidrogenasa. Las deshidrogenasas son activadas por Ca^{2+}, que aumenta de concentración durante la contracción muscular y secreción por otros tejidos, cuando hay aumento de la demanda de energía. En un tejido como el cerebro, que depende en su mayor parte de carbohidratos para el aporte de acetil-CoA, el control del ciclo del ácido cítrico puede ocurrir en la piruvato deshidrogenasa. Varias enzimas se encargan de la situación en cuanto a energía, como se demuestra por las proporciones [ATP]/[ADP] y [NADH]/[NAD^+]. De este modo, hay inhibición alostérica de la citrato sintasa por el ATP y acil-CoA grasa de cadena larga. La activación alostérica de la isocitrato deshidrogenasa dependiente de NAD, mitocondrial, por ADP, es contrarrestada por ATP y NADH. El complejo de α-cetoglutarato deshidrogenasa está regulado de la misma manera que la piruvato deshidrogenasa (figura 18-6). La succinato deshidrogenasa es inhibida por el oxaloacetato, y la disponibilidad de este último, según se controla por la malato deshidrogenasa, depende de la proporción [NADH]/[NAD^+]. Dado que la K_m para oxaloacetato de la citrato sintasa es del mismo orden de magnitud que la concentración intramitocondrial, es probable que la concentración de oxaloacetato controle el índice de formación de citrato. Queda por resolver cuáles de estos mecanismos son importantes *in vivo.*

La hiperamonemia, como ocurre en la enfermedad hepática avanzada y en varias enfermedades genéticas (raras) del metabolismo de aminoácidos, lleva a pérdida del conocimiento, coma y convulsiones, y puede ser mortal. Esto se debe al retiro de α-cetoglutarato para formar glutamato (lo cual es catalizado por la glutamato deshidrogenasa) y después glutamina (lo cual es catalizado por la glutamina sintetasa), lo que da pie a concentraciones reducidas de todos los intermediarios del ciclo del ácido cítrico y, por ende, menor generación de ATP. El equilibrio de la glutamato deshidrogenasa está finamente establecido, y la dirección de la reacción depende de la proporción de NAD^+:NADH y la concentración de iones amonio. Además, el amoniaco inhibe la α-cetoglutarato deshidrogenasa, y posiblemente también la piruvato deshidrogenasa.

RESUMEN

- El ciclo del ácido cítrico es la vía final para la oxidación de carbohidratos, lípidos y proteínas. Su metabolito terminal común, la acetil-CoA, reacciona con el oxaloacetato para formar citrato. Mediante una serie de deshidrogenaciones y descarboxilaciones, el citrato es degradado, lo que reduce coenzimas, libera 2 CO_2 y regenera oxaloacetato.
- Las coenzimas reducidas se oxidan mediante la cadena respiratoria enlazada a la formación de ATP. De este modo, el ciclo es la principal vía para la formación de ATP, y está ubicado en la matriz de mitocondrias adyacente a las enzimas de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa.
- El ciclo del ácido cítrico es anfibólico, puesto que además de oxidación, es importante en el suministro de esqueletos de carbono para la gluconeogénesis, la síntesis de ácidos grasos y la interconversión de aminoácidos.

REFERENCIAS

Baldwin JE, Krebs HA: The evolution of metabolic cycles. Nature 1981;291:381.

Bowtell JL, Bruce M: Glutamine: an anaplerotic precursor. Nutrition 2002;18:222.

Briere JJ, Favier J, Giminez-Roqueplo A-P, et al: Tricarboxylic acid cycle dysfunction as a cause of human diseases and tumor formation. Am J Physiol Cell Physiol 2006;291:C1114.

Brunengraber H, Roe CR: Anaplerotic molecules: current and future. J Inherit Metab Dis 2006;29:327.

De Meirleir L: Defects of pyruvate metabolism and the Krebs cycle. J Child Neurol 2002;Suppl 3:3S26.
Gibala MJ, Young ME: Anaplerosis of the citric acid cycle: role in energy metabolism of heart and skeletal muscle. Acta Physiol Scand 2000;168:657.
Hertz L, Kala G: Energy metabolism in brain cells: effects of elevated ammonia concentrations. Metab Brain Dis 2007;22:199–218.
Jitrapakdee S, Vidal-Puig A, Wallace JC: Anaplerotic roles of pyruvate carboxylase in mammalian tissues. Cell Mol Life Sci 2006;63:843.
Jitrapakdee S, St Maurice M, Rayment I, et al: Structure, mechanism and regulation of pyruvate carboxylase. Biochem J 2008;413:369
Kay J, Weitzman PDJ (editors): *Krebs' Citric Acid Cycle—Half a Century and Still Turning.* Biochemical Society, 1987.
Kornberg H: Krebs and his trinity of cycles. Nat Rev Mol Cell Biol 2000;1:225.
Ott P, Clemmesen O, Larsen FS: Cerebral metabolic disturbances in the brain during acute liver failure: from hyperammonemia to energy failure and proteolysis. Neurochem Int 2005;47:13.
Owen OE, Kalhan SC: The key role of anaplerosis and cataplerosis for citric acid cycle function. J Biol Chem 2002;277:30409.
Pithukpakorn, M: Disorders of pyruvate metabolism and the tricarboxylic acid cycle. Mol Genet Metab 2005;85:243.
Sumegi B, Sherry AD: Is there tight channelling in the tricarboxylic acid cycle metabolon? Biochem Soc Trans 1991;19:1002.

C A P Í T U L O

18

Glucólisis y la oxidación de piruvato

David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

O B J E T I V O S

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir la vía de la glucólisis y su control, y explicar cómo la glucólisis puede operar en condiciones anaeróbicas.
- Describir la reacción de la piruvato deshidrogenasa y su regulación.
- Explicar cómo la inhibición del metabolismo de piruvato lleva a acidosis láctica.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Casi todos los tejidos tienen al menos cierto requerimiento de glucosa. En el cerebro, el requerimiento es considerable, e incluso en ayuno prolongado el cerebro no puede satisfacer más de alrededor de 20% de sus necesidades de energía a partir de cuerpos cetónicos. La glucólisis, la principal vía para el metabolismo de la glucosa, ocurre en el citosol de todas las células. Es singular, por cuanto puede funcionar de manera aerobia o anaerobia, según la disponibilidad de oxígeno y la cadena de transporte de electrones. Los eritrocitos, que carecen de mitocondrias, dependen por completo de la glucosa como su combustible metabólico y la metabolizan mediante glucólisis anaeróbica. Sin embargo, oxidar glucosa más allá del piruvato (el producto terminal de la glucólisis) requiere tanto oxígeno como sistemas de enzimas mitocondriales: el complejo de piruvato deshidrogenasa, el ciclo del ácido cítrico (cap. 17) y la cadena respiratoria (cap. 13).

La glucólisis es la principal ruta para el metabolismo de la glucosa y la principal vía para el metabolismo de la fructosa, galactosa y otros carbohidratos derivados de la dieta. La capacidad de la glucólisis para proporcionar ATP en ausencia de oxígeno tiene especial importancia, porque esto permite al músculo estriado tener un desempeño a cifras muy altas de gasto de trabajo cuando el aporte de oxígeno es insuficiente, y permite a los tejidos sobrevivir a episodios de anoxia. Sin embargo, el músculo cardiaco, que está adaptado para el desempeño aerobio, tiene actividad glucolítica relativamente baja, y poca supervivencia en condiciones de **isquemia**. Las enfermedades en las cuales hay deficiencia de las enzimas de la glucólisis (p. ej., piruvato cinasa) se observan sobre todo como **anemias hemolíticas** o, si el defecto afecta el músculo estriado (p. ej., fosfofructocinasa), como **fatiga**. En las células cancerosas en crecimiento rápido, la glucólisis procede a un índice alto, formando grandes cantidades de piruvato, el cual es reducido hacia lactato y exportado. Esto produce un ambiente local hasta cierto punto ácido en el tumor, mismo que puede tener inferencias para la terapia del cáncer. El lactato se usa para gluconeogénesis en el hígado (cap. 20), proceso costoso en cuanto a energía, del cual depende gran parte del **hipermetabolismo** que se observa en la **caquexia por cáncer**. La **acidosis láctica** se produce por varias causas, entre ellas actividad alterada de la piruvato deshidrogenasa, especialmente en la deficiencia de tiamina (vitamina B_1).

LA GLUCÓLISIS PUEDE FUNCIONAR EN CONDICIONES ANAEROBIAS

En las primeras investigaciones de la glucólisis quedó de manifiesto que la fermentación en levaduras era similar a la desintegración de glucógeno en el músculo. Fue evidente que cuando un músculo se contrae en un medio anaerobio, esto es, uno a partir del cual se excluye el oxígeno, el **glucógeno desaparece** y **aparece lactato**; cuando se admite oxígeno, tiene lugar la recuperación aerobia, y ya no se produce lactato. No obstante, si ocurre contracción en condiciones aerobias, no hay acumulación de lactato, y el piruvato es el principal producto terminal de la glucólisis. El piruvato se oxida más hacia CO_2 y agua (**figura 18-1**). Cuando hay carencia de oxígeno, la reoxidación mitocondrial de NADH formado durante la glucólisis está alterada, y el NADH se reoxida al reducir piruvato a lactato, de modo que se permite que proceda la glucólisis (figura 18-1). Si bien la glucólisis puede ocurrir en condiciones anaerobias, esto tiene un precio, puesto que limita la cantidad de ATP formado por cada mol de glucosa oxidada, de modo que debe metabolizarse mucha más glucosa en condiciones anaerobias que en condiciones aerobias. En levaduras y algunos otros microorganismos, el piruvato formado en la glucólisis anaerobia no se reduce a lactato, sino que se descarboxila y reduce a etanol.

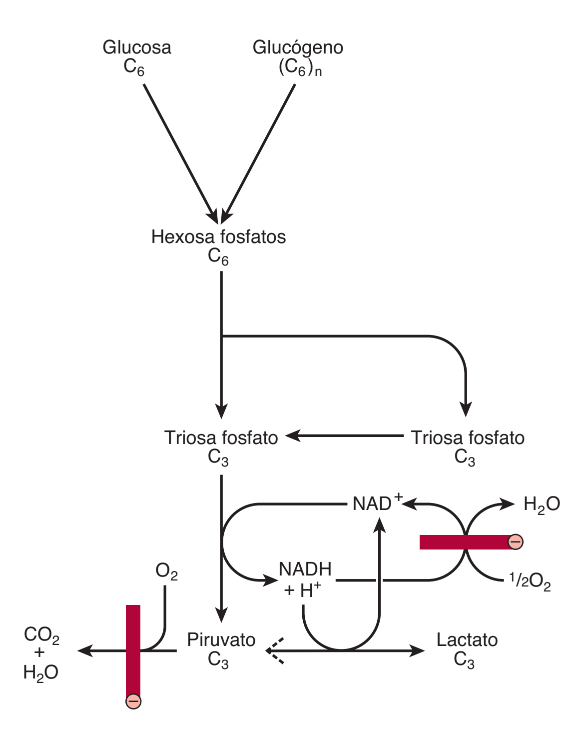


FIGURA 18–1 **Resumen de la glucólisis.** ⊖, bloqueada por condiciones anaeróbicas o por falta de mitocondrias que contienen enzimas respiratorias clave, como en los eritrocitos.

LAS REACCIONES DE LA GLUCÓLISIS CONSTITUYEN LA PRINCIPAL VÍA DE UTILIZACIÓN DE GLUCOSA

La ecuación general para la glucólisis de glucosa a lactato es como sigue:

$$\text{Glucosa} + 2\ \text{ADP} + 2\ P_i \rightarrow 2\ \text{Lactato} + 2\ \text{ATP} + 2\ H_2O$$

Todas las enzimas de la glucólisis (**figura 18-2**) se encuentran en el citosol. La glucosa entra a la glucólisis por medio de fosforilación hacia glucosa 6-fosfato, catalizada por la **hexocinasa**, usando ATP como el donador de fosfato. En condiciones fisiológicas, la fosforilación de glucosa hacia glucosa 6-fosfato puede considerarse irreversible. La hexocinasa es inhibida de manera alostérica por su producto, la glucosa 6-fosfato.

En tejidos que no son el hígado (y en las células β de los islotes pancreáticos), la disponibilidad de glucosa para glucólisis (o para síntesis de glucógeno en el músculo, cap. 19, y lipogénesis en el tejido adiposo, cap. 23) se controla mediante transporte hacia la célula, que a su vez está regulado por la **insulina**. La hexocinasa tiene afinidad alta (K_m baja) por la glucosa, y en el hígado está saturada en condiciones normales y, así, actúa a un índice constante para proporcionar glucosa 6-fosfato para satisfacer las necesidades hepáticas. Las células del hígado también contienen una isoenzima de la hexocinasa, la **glucocinasa**, que tiene una K_m mucho más alta que la concentración intracelular normal de glucosa. La función de la glucocinasa en el hígado es eliminar glucosa de la sangre después de una comida, proporcionando glucosa 6-fosfato en una cantidad superior a los requerimientos para la glucólisis, que se usa para la síntesis de glucógeno y lipogénesis. La glucocinasa también se encuentra en las células β de los islotes pancreáticos, donde funciona para detectar concentración alta de glucosa; los metabolitos hacia adelante de la glucosa 6-fosfato formada estimulan la secreción de insulina.

La glucosa 6-fosfato es un importante compuesto en la unión de varias vías metabólicas: glucólisis, gluconeogénesis, la vía de la pentosa fosfato, glucogénesis y glucogenólisis. En la glucólisis se convierte en fructosa 6-fosfato mediante la **fosfohexosa isomerasa**, que comprende una isomerización aldosa-cetosa. Esta reacción va seguida por otra fosforilación catalizada por la enzima **fosfofructocinasa** (fosfofructocinasa-1) que forma fructosa 1,6-bisfosfato. En condiciones fisiológicas puede considerarse que la reacción de la fosfofructocinasa es funcionalmente irreversible; es inducible, está sujeta a regulación alostérica, y tiene una participación importante en la regulación del índice de glucólisis. La **aldolasa** (fructosa 1,6-bisfosfato aldolasa) divide a la fructosa 1,6-bisfosfato en dos triosa fosfatos, el gliceraldehído 3-fosfato y la dihidroxiacetona fosfato. La enzima **fosfotriosa isomerasa** interconvierte estos dos últimos compuestos.

La glucólisis continúa con la oxidación de gliceraldehído 3-fosfato a 1,3-bisfosfoglicerato. La enzima que cataliza esta oxidación, **gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa**, es dependiente del NAD. Desde el punto de vista estructural consta de cuatro polipéptidos idénticos (monómeros) que forman un tetrámero. En cada polipéptido hay cuatro grupos —SH, derivados de residuos cisteína dentro de la cadena polipeptídica. Uno de los grupos —SH se encuentra en el sitio activo de la enzima (**figura 18-3**). El sustrato inicialmente se combina con este grupo —SH, lo que forma un tiohemiacetal que se oxida hacia un tiol éster; los hidrógenos eliminados en esta oxidación se transfieren al NAD^+. El tiol éster después pasa por fosforólisis; se agrega fosfato inorgánico (P_i), lo que forma 1,3-bisfosfoglicerato, y el grupo —SH se reconstituye.

En la reacción siguiente, catalizada por la **fosfoglicerato cinasa**, el fosfato se transfiere desde el 1,3-bisfosfoglicerato hacia ADP, lo que forma ATP (fosforilación en el ámbito de sustrato) y 3-fosfoglicerato. Dado que se forman dos moléculas de triosa fosfato por cada molécula de glucosa que pasa por glucólisis, en esta reacción se forman dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa que pasa por glucólisis. La toxicidad del arsénico depende de la competencia del arsenato con el fosfato inorgánico (P_i) en esta reacción anterior para dar 1-arseno-3-fosfoglicerato, que se hidroliza de manera espontánea hacia 3-fosfoglicerato sin formar ATP. La **fosfoglicerato mutasa** isomeriza el 3-fosfoglicerato hacia 2-fosfoglicerato. Es probable que el 2,3-bisfosfoglicerato (difosfoglicerato, DPG) sea un intermediario en esta reacción.

El paso subsiguiente es catalizado por la **enolasa**, y comprende una deshidratación, lo que forma fosfoenolpiruvato. La enolasa es inhibida por el **fluoruro**, y cuando se obtienen muestras de sangre para medición de glucosa, se deben recolectar en tubos que contienen fluoruro a fin de inhibir la glucólisis. La

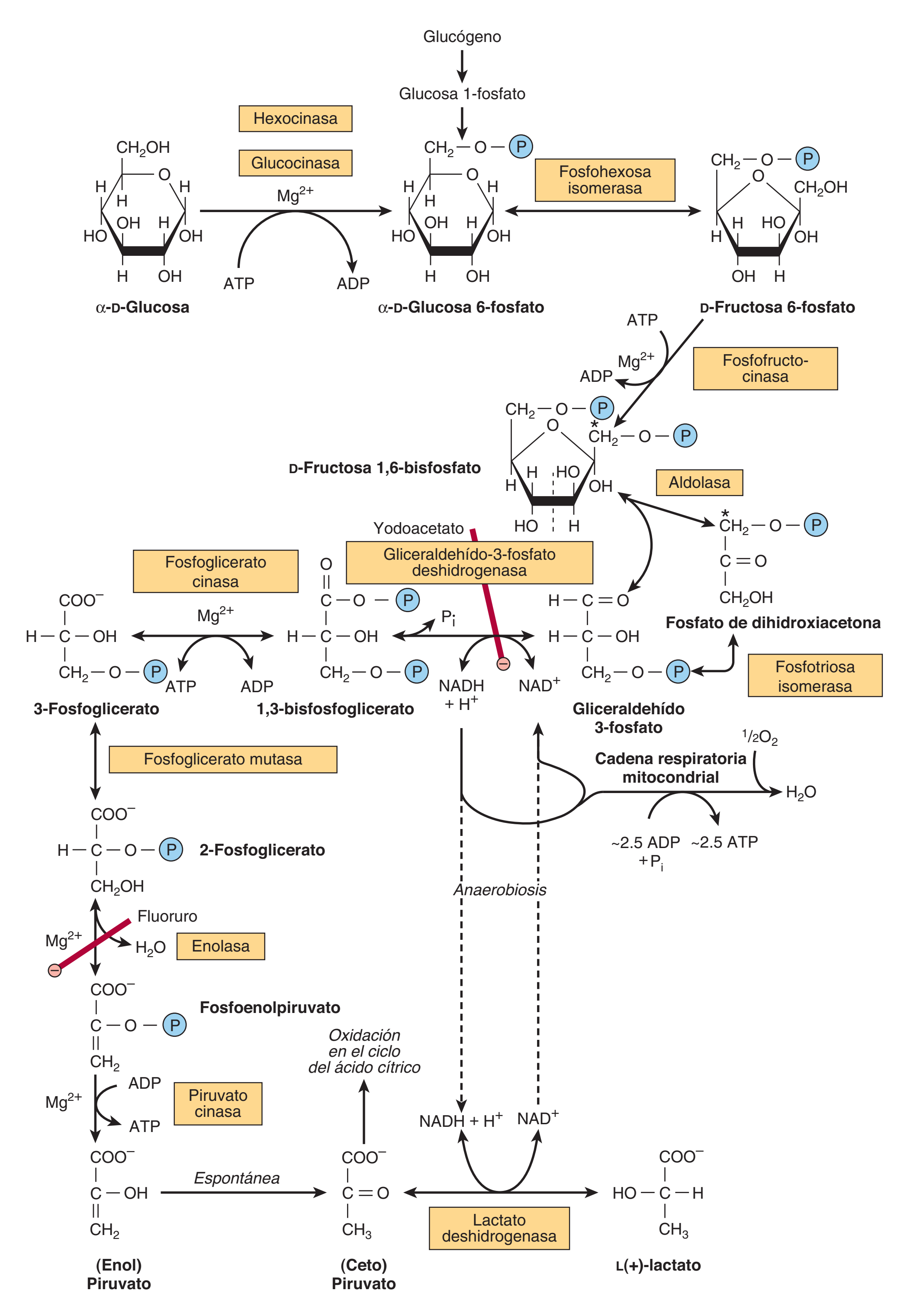


FIGURA 18–2 La vía de la glucólisis. (Ⓟ, $—PO_3^{2-}$; P_i, $HOPO_3^{2-}$; ⊖, inhibición.) *Los carbonos 1 a 3 del bisfosfato de fructosa forman fosfato de dihidroxiacetona, y los carbonos 4 a 6 forman gliceraldehído 3-fosfato. El término "bis", como en bisfosfato, indica que los grupos fosfato están separados, mientras que el término "di", como en el difosfato de adenosina, indica que están unidos.

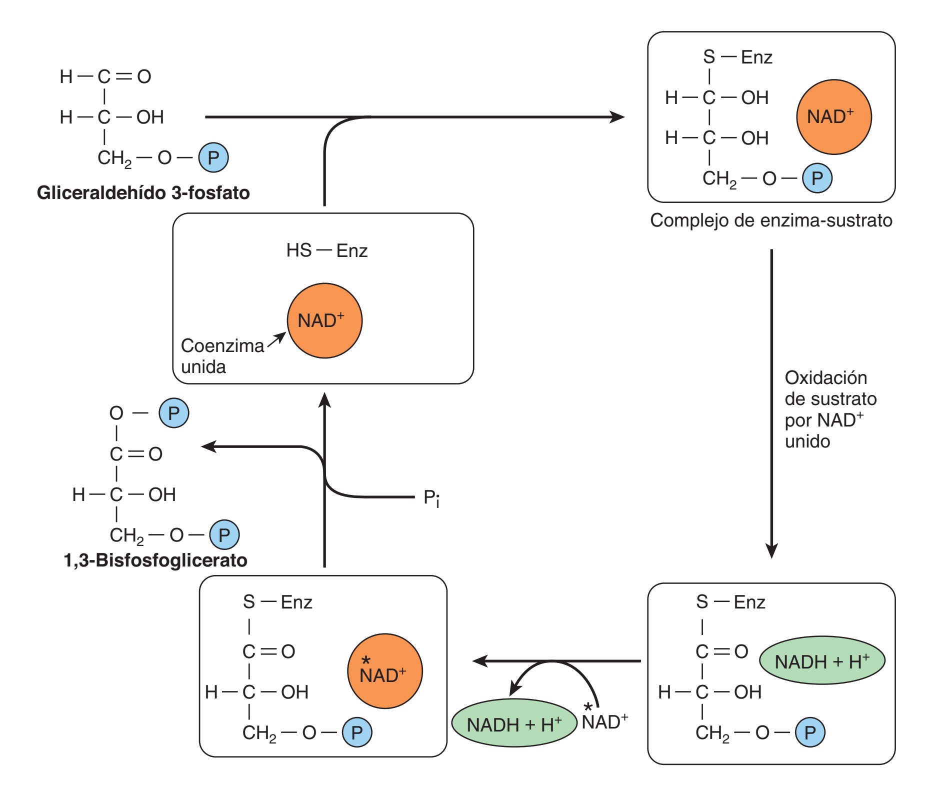


FIGURA 18–3 **Mecanismo de oxidación del gliceraldehído 3-fosfato.** (Enz, gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa.) La enzima es inhibida por el veneno —SH yodoacetato, que, así, es capaz de inhibir la glucólisis. El NADH producido sobre la enzima no está tan firmemente unido a esta última como el NAD^+. En consecuencia, el NADH es desplazado fácilmente por otra molécula de NAD^+.

enzima también depende de la presencia de Mg^{2+} o Mn^{2+}. El fosfato del fosfoenolpiruvato se transfiere hacia el ADP mediante la **piruvato cinasa** para formar dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa oxidada. La reacción de la piruvato cinasa es en esencia irreversible en condiciones fisiológicas, debido en parte al gran cambio de energía libre involucrado, y en parte a que el producto inmediato de la reacción catalizada por enzima es el enol-piruvato, que pasa por isomerización espontánea hacia piruvato, de modo que el producto de la reacción no está disponible para pasar por la reacción inversa.

El estado redox del tejido ahora determina cuál de dos vías se sigue. En condiciones **anaerobias**, el NADH no se puede reoxidar por medio de la cadena respiratoria a oxígeno. El NADH reduce el piruvato hacia lactato, lo cual es catalizado por la **lactato deshidrogenasa**. Hay diferentes isoenzimas de lactato deshidrogenasa específicas para tejido, que tienen importancia clínica (cap. 7). La reoxidación de NADH por medio de la formación de lactato permite que la glucólisis proceda en ausencia de oxígeno al regenerar suficiente NAD^+ para otro ciclo de la reacción catalizada por gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa. En **condiciones aerobias**, el piruvato es captado hacia las mitocondrias, y después de descarboxilación oxidativa hacia acetil-CoA, el ciclo del ácido cítrico lo oxida hacia CO_2 (cap. 17). Los equivalentes reductores provenientes del NADH formado en la glucólisis son captados hacia las mitocondrias para oxidación por medio de uno de los dos transbordadores (lanzaderas) descritos en el capítulo 13.

Los tejidos que funcionan en condiciones hipóxicas producen lactato

Lo anterior es cierto para el músculo estriado, en particular las fibras blancas, donde el índice de gasto de trabajo y, por ende, la necesidad de formación de ATP, puede exceder el índice al cual se puede captar oxígeno y utilizarlo. La glucólisis en los eritrocitos siempre termina en lactato, porque las reacciones subsiguientes de oxidación de piruvato son mitocondriales, y los eritrocitos carecen de mitocondrias. Otros tejidos que en circunstancias normales obtienen gran parte de su energía de la glucólisis y producen lactato son el cerebro, el tubo digestivo, la médula renal, la retina y la piel. La producción de lactato también se incrementa en el choque séptico; asimismo, muchos cánceres producen lactato. El hígado, los riñones y el corazón por lo general captan lactato y lo oxidan, pero lo producen en condiciones de hipoxia.

Cuando la producción de lactato es alta, como en el ejercicio vigoroso, el choque séptico y la caquexia por cáncer, gran parte se utiliza en el hígado para gluconeogénesis (cap. 20), lo que lleva a un incremento del índice metabólico para proporcionar el ATP y GTP necesarios. El aumento del consumo de oxígeno como resultado de incremento de la oxidación de combustibles metabólicos para proporcionar el ATP y GTP necesarios para la gluconeogénesis se observa como **deuda de oxígeno** después de ejercicio vigoroso.

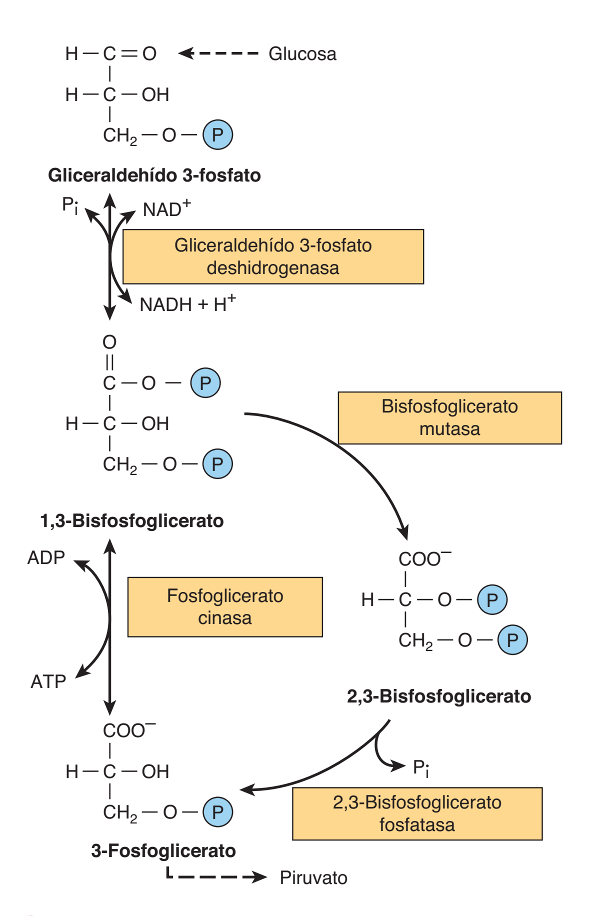


FIGURA 18–4 **Vía del 2,3-bisfosfoglicerato en los eritrocitos.**

En algunas circunstancias llega a formarse lactato en el citosol, pero después entra en la mitocondria para ser oxidado hacia piruvato para metabolismo anterógrado. Esto proporciona una vía para la transferencia de equivalentes reductores desde el citosol hacia la mitocondria para la cadena de transporte de electrones además de los transbordadores de glicerofosfato (figura 13-12) y malato (figura 13-13).

LA GLUCÓLISIS ESTÁ REGULADA EN TRES PASOS QUE INVOLUCRAN REACCIONES DESEQUILIBRADAS

Aunque la mayor parte de las reacciones de la glucólisis son reversibles, tres son en gran medida exergónicas y, por ende, deben considerarse irreversibles desde el punto de vista fisiológico. Estas reacciones, catalizadas por la **hexocinasa** (y glucocinasa), **fosfofructocinasa** y **piruvato cinasa**, son los principales sitios de regulación de la glucólisis. La fosfofructocinasa está significativamente inhibida a concentraciones intracelulares normales de ATP; esta inhibición puede aliviarse con rapidez mediante 5′ AMP que se forma a medida que empieza a acumularse ADP, lo que señala la necesidad de índice de glucólisis aumentado (cap. 20). Las células que tienen la capacidad de **gluconeogénesis** (que revierten la vía glucolítica, cap. 20) tienen diferentes enzimas que catalizan reacciones para revertir estos pasos irreversibles; glucosa 6-fosfatasa, fructosa 1,6-bisfosfatasa y, para revertir la reacción de la piruvato cinasa, piruvato carboxilasa y fosfoenolpiruvato carboxicinasa. La **fructosa** entra a la glucólisis mediante fosforilación hacia fructosa 1-fosfato, y evita los principales pasos reguladores; de este modo, da por resultado la formación de más piruvato (y acetil-CoA) que el necesario para la formación de ATP (cap. 21). En el hígado y el tejido adiposo, esto lleva a aumento de la lipogénesis, y una ingestión alta de fructosa puede ser un factor en la aparición de obesidad.

En los eritrocitos es posible evitar el paso por el primer sitio de formación de ATP en la glucólisis

En los eritrocitos, es factible evitar hasta cierto grado el paso por la reacción catalizada por la **fosfoglicerato cinasa** mediante la reacción de la **bisfosfoglicerato mutasa**, que cataliza la conversión de 1,3-bisfosfoglicerato en 2,3-bisfosfoglicerato, seguida por hidrólisis hacia 3-fosfoglicerato y P_i, catalizada por la **2,3-bisfosfoglicerato fosfatasa** (**figura 18-4**). Esta vía alternativa comprende rendimiento neto nulo de ATP por glucólisis. Sin embargo, sirve para proporcionar 2,3-bisfosfoglicerato, que se une a la hemoglobina, lo que disminuye su afinidad por el oxígeno y, así, hace que el oxígeno esté disponible con más facilidad para los tejidos (cap. 6).

LA OXIDACIÓN DEL PIRUVATO HACIA ACETIL-CoA ES LA RUTA IRREVERSIBLE DESDE LA GLUCÓLISIS HACIA EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO

El piruvato, formado en el citosol, es transportado hacia la mitocondria mediante un simportador (*symporter*) de protón (figura 13-10). Dentro de la mitocondria, se descarboxila de manera oxidativa hacia acetil-CoA mediante un complejo de múltiples enzimas relacionado con la membrana mitocondrial interna. Este **complejo de piruvato deshidrogenasa** es análogo al complejo de α-cetoglutarato deshidrogenasa del ciclo del ácido cítrico (figura 17-3). El piruvato es descarboxilado por la **piruvato deshidrogenasa** componente del complejo enzimático hacia un derivado hidroxietilo del anillo tiazol de **tiamina difosfato** unido a enzima que, a su vez, reacciona con lipoamida oxidada, el grupo prostético de la **dihidrolipoil transacetilasa**, para formar acetil lipoamida (**figura 18-5**). La tiamina es la vitamina B_1 (cap. 44) y, cuando hay deficiencia, el metabolismo de la glucosa está alterado, y hay acidosis láctica y pirúvica importantes (y que en potencia ponen en peligro la vida). La acetil lipoamida reacciona con la coenzima A para formar acetil-CoA y lipoamida reducida. La reacción se completa cuando la lipoamida reducida se vuelve a oxidar mediante una flavoproteína, la **dihidrolipoil deshidrogenasa**, que contiene FAD. Por último, la flavoproteína reducida se oxida mediante NAD^+ que, a su vez, transfiere equivalentes reductores a la cadena respiratoria. La reacción es:

$$\text{Piruvato} + NAD^+ + \text{CoA} \rightarrow \text{Acetil-CoA} + NADH + H^+ + CO_2$$

El complejo de piruvato deshidrogenasa consta de varias cadenas polipeptídicas de cada una de las tres enzimas componentes,

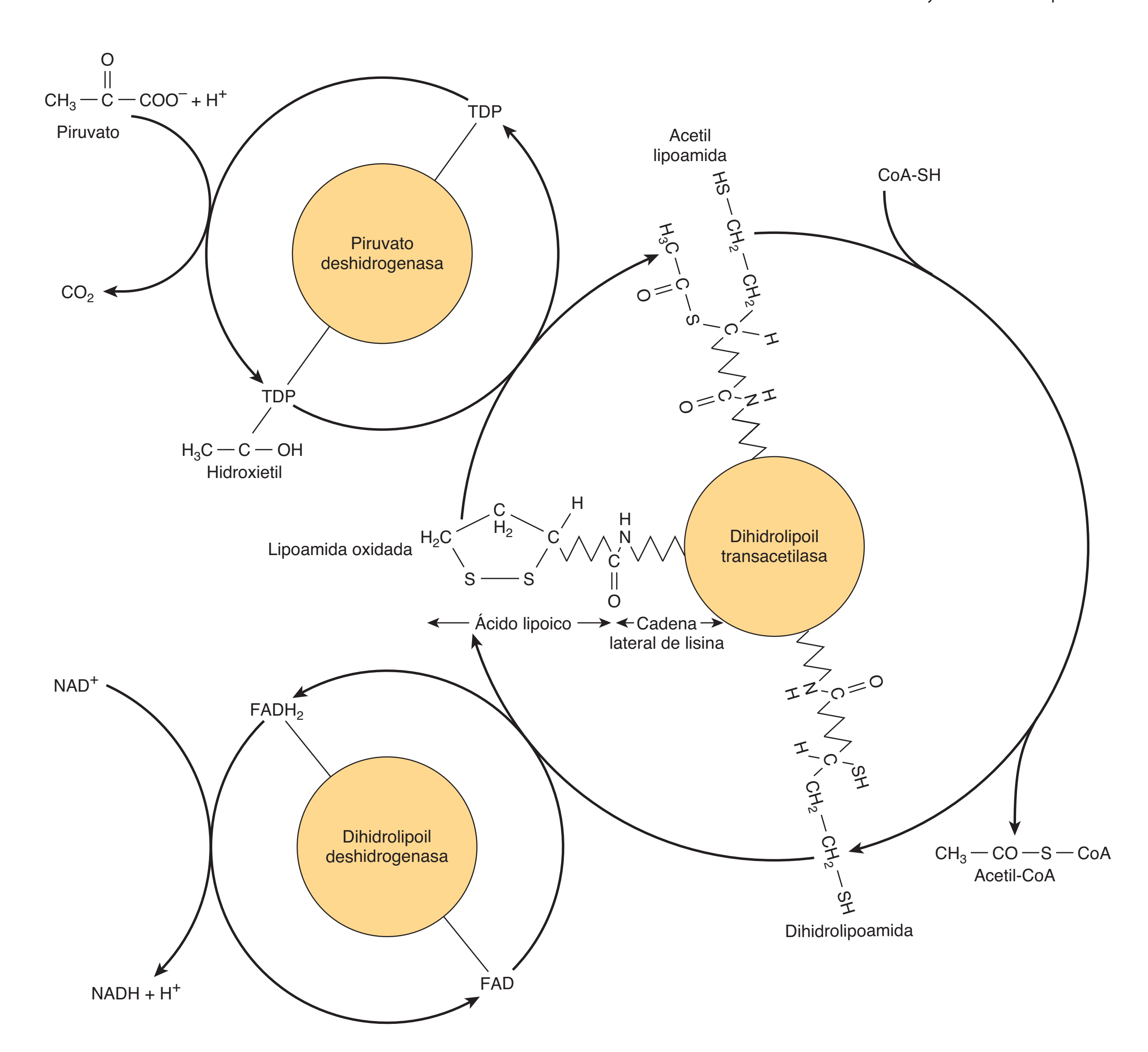


FIGURA 18–5 Descarboxilación oxidativa de piruvato por el complejo de piruvato deshidrogenasa. El ácido lipoico es unido por un enlace amida a un residuo lisina del componente transacetilasa del complejo enzimático. Forma un extremo flexible y largo, que permite que el grupo prostético del ácido lipoico rote de manera secuencial entre los sitios activos de cada una de las enzimas del complejo. (FAD, flavina adenina dinucleótido; NAD^+, nicotinamida adenina dinucleótido; TDP, tiamina difosfato.)

y los intermediarios no se disocian, sino que permanecen unidos a las enzimas. Ese complejo de enzimas, en el cual los sustratos pasan desde una enzima hacia la siguiente, aumenta el índice de reacción y previene reacciones colaterales, lo que aumenta la eficiencia general.

La piruvato deshidrogenasa está regulada mediante inhibición por producto terminal y modificación covalente

La piruvato deshidrogenasa es inhibida por sus productos, acetil-CoA y NADH (**figura 18-6**). También está regulada por fosforilación (catalizada por una cinasa) de tres residuos serina sobre el componente piruvato deshidrogenasa del complejo de múltiples enzimas, lo que da por resultado decremento de la actividad, y por desfosforilación (catalizada por una fosfatasa) que causa un aumento de la actividad. La cinasa se activa por incrementos de las proporciones [ATP]/[ADP], [acetil-CoA]/[CoA], y [NADH]/[NAD^+]. De este modo, la piruvato deshidrogenasa y, por ende, la glucólisis, son inhibidas cuando se dispone de ATP adecuado (y coenzimas reducidas para la formación de ATP), y también cuando los ácidos grasos se están oxidando. En el ayuno, cuando aumentan las concentraciones de ácido graso libre, hay un decremento de la proporción de la enzima en la forma activa, lo que lleva a una preservación de carbohidrato. En el tejido adiposo, donde la glucosa proporciona acetil-CoA para lipogénesis, la enzima se activa en respuesta a insulina.

La oxidación de la glucosa da hasta 32 mol de ATP en condiciones aerobias, pero sólo 2 mol en ausencia de O_2

Cuando un mol de glucosa es objeto de combustión en un calorímetro hacia CO_2 y agua, se liberan unos 2 870 kJ como calor. Cuando la oxidación ocurre en los tejidos, se generan alrededor

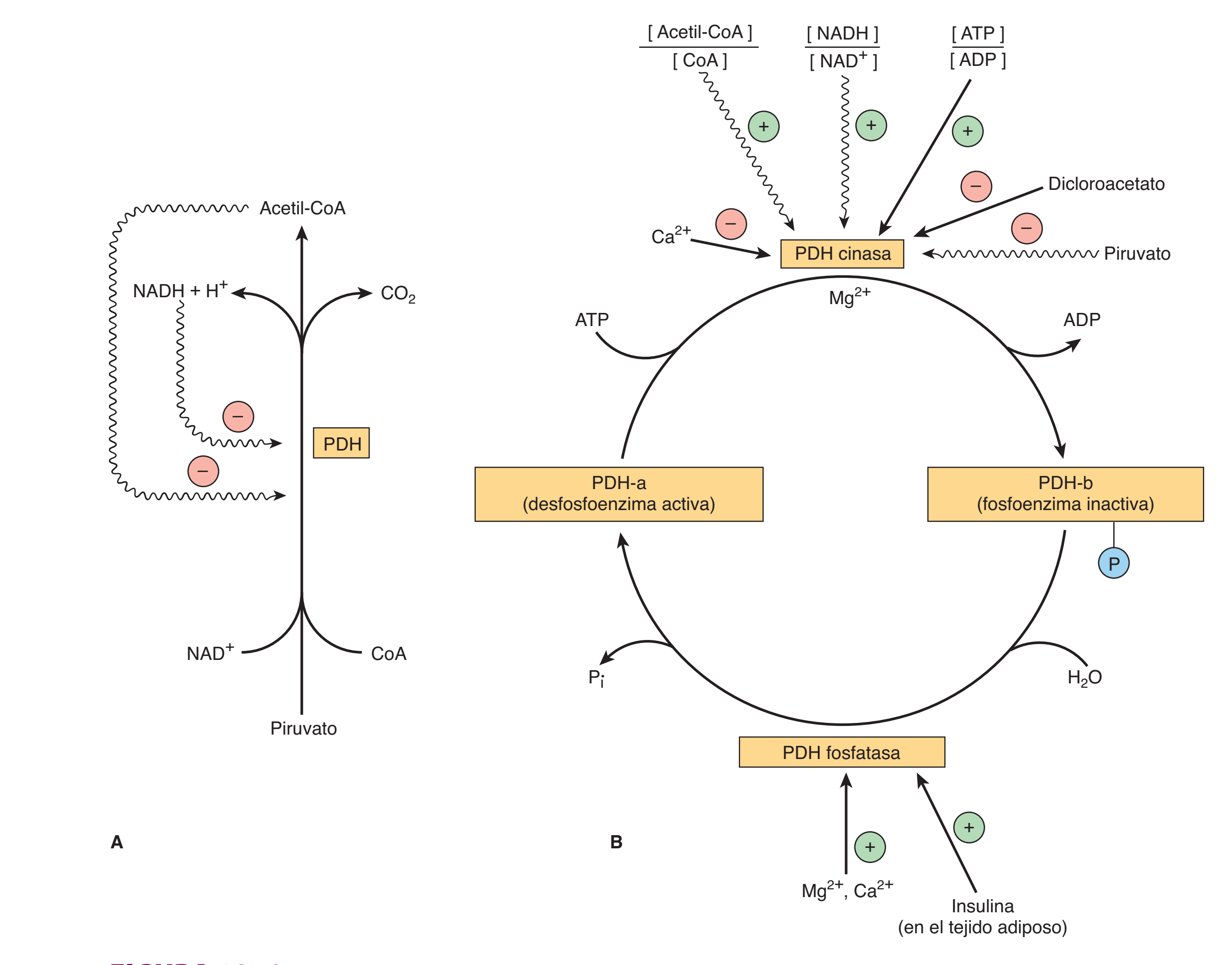


FIGURA 18–6 Regulación de la piruvato deshidrogenasa (PDH). Las flechas con el eje ondulado indican efectos alostéricos. **A)** Regulación por inhibición por producto terminal. **B)** Regulación por interconversión de formas activas e inactivas.

de 32 mol de ATP por cada molécula de glucosa oxidada hacia CO_2 y agua. *In vivo*, la ΔG para la reacción de ATP sintasa se ha calculado como cercana a 51.6 kJ. Resulta que la energía total captada en el ATP por cada mol de glucosa oxidada es de 1 651 kJ, o alrededor de 58% de la energía de combustión. La mayor parte del ATP se forma mediante fosforilación oxidativa originada por la reoxidación de coenzimas reducidas por la cadena respiratoria; el resto se forma por fosforilación en el ámbito de sustrato (**cuadro 18-1**).

ASPECTOS CLÍNICOS

La inhibición del metabolismo del piruvato lleva a acidosis láctica

La arsenita y los iones mercúricos reaccionan con los grupos —SH del ácido lipoico, e inhiben la piruvato deshidrogenasa, como lo hace una **deficiencia de tiamina en la dieta** (cap. 44), lo que permite que se acumule piruvato. Muchos alcohólicos tienen deficiencia de tiamina (tanto por llevar una dieta inadecuada como porque el alcohol inhibe la absorción de tiamina) y a menudo presentan acidosis pirúvica y láctica que en potencia es mortal. Los pacientes con **deficiencia hereditaria de piruvato deshidrogenasa**, que puede ser el resultado de defectos en uno o más de los componentes del complejo de enzimas, también presentan acidosis láctica, en particular después de una carga de glucosa. Debido a la dependencia del cerebro de la glucosa como un combustible, estos defectos metabólicos por lo general causan alteraciones neurológicas.

La deficiencia hereditaria de aldolasa A y la deficiencia de piruvato cinasa en los eritrocitos causan **anemia hemolítica**. Los pacientes con **deficiencia de fosfofructocinasa muscular** tienen baja capacidad para hacer ejercicio, en particular si están recibiendo dietas con alto contenido de carbohidratos. Al proporcionar lípido como un combustible alternativo, por ejemplo, durante la inanición, cuando los ácidos grasos libres y los cuerpos cetónicos en la sangre están aumentados, la capacidad para desempeñar trabajo mejora.

RESUMEN

- La glucólisis es la vía citosólica de todas las células de mamífero para el metabolismo de la glucosa (o del glucógeno) hacia piruvato y lactato.
- Puede funcionar de manera anaeróbica al regenerar NAD^+ oxidado (que se requiere en la reacción de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa), al reducir piruvato hacia lactato.
- El lactato es el producto terminal de la glucólisis en condiciones anaeróbicas (p. ej., en músculo que está haciendo ejercicio)

CUADRO 18–1 Formación de ATP en el catabolismo de la glucosa

Vía	Reacción catalizada por	Método de formación de ATP	ATP por mol de glucosa
Glucólisis	Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa	Oxidación de 2 NADH en la cadena respiratoria	5[1]
	Fosfoglicerato cinasa	Fosforilación en el ámbito de sustrato	2
	Piruvato cinasa	Fosforilación en el ámbito de sustrato	2
			9
	Consumo de ATP para reacciones de hexocinasa y fosfofructocinasa		–2
			7 netos
Ciclo del ácido cítrico	Piruvato deshidrogenasa	Oxidación de 2 NADH en la cadena respiratoria	5
	Isocitrato deshidrogenasa	Oxidación de 2 NADH en la cadena respiratoria	5
	α-Cetoglutarato deshidrogenasa	Oxidación de 2 NADH en la cadena respiratoria	5
	Succinato tiocinasa	Fosforilación en el ámbito de sustrato	2
	Succinato deshidrogenasa	Oxidación de 2 $FADH_2$ en la cadena respiratoria	3
	Malato deshidrogenasa	Oxidación de 2 NADH en la cadena respiratoria	5
			25 netos
	Total por mol de glucosa en condiciones aerobias		32
	Total por mol de glucosa en condiciones anaerobias		2

[1] Esto supone que el NADH formado en la glucólisis se transporta hacia las mitocondrias mediante el transbordador de malato (figura 13-13). Si se usa el transbordador de glicerofosfato, sólo se formarán 1.5 ATP por cada mol de NADH. Note que hay una ventaja considerable en el uso de glucógeno en lugar de glucosa para la glucólisis anaerobia en el músculo, porque el producto de la glucógeno fosforilasa es la glucosa 1-fosfato (figura 19-1), que es interconvertible con glucosa 6-fosfato. Esto ahorra el ATP que de otro modo sería usado por la hexocinasa, lo que aumenta el rendimiento neto de ATP de dos a tres por cada glucosa.

o, en eritrocitos, cuando no hay mitocondrias para permitir la oxidación adicional de piruvato.

- La glucólisis está regulada por tres enzimas que catalizan reacciones desequilibradas: hexocinasa, fosfofructocinasa y piruvato cinasa.
- En los eritrocitos, puede evitarse el paso por el primer sitio en la glucólisis para la generación de ATP, lo que lleva a la formación de 2,3-bisfosfoglicerato, que tiene importancia en el decremento de la afinidad de la hemoglobina por el O_2.
- El piruvato se oxida hacia acetil-CoA mediante un complejo de múltiples enzimas, piruvato deshidrogenasa, que es dependiente del factor derivado de vitamina, difosfato de tiamina.
- Las condiciones que involucran un deterioro del metabolismo del piruvato suelen llevar a acidosis láctica.

REFERENCIAS

Behal RH, Buxton DB, Robertson JG, Olson MS: Regulation of the pyruvate dehydrogenase multienzyme complex. Annu Rev Nutr 1993;13:497.

Boiteux A, Hess B: Design of glycolysis. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 1981;293:5.

Fothergill-Gilmore LA: The evolution of the glycolytic pathway. Trends Biochem Sci 1986;11:47.

Gladden LB: Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. J Physiol 2004;558:5.

Kim J-W, Dang CV: Multifaceted roles of glycolytic enzymes. Trends Biochem Sci 2005;30:142.

Levy B: Lactate and shock state: the metabolic view. Curr Opin Crit Care 2006;1:315.

Maj MC, Cameron JM, Robinson BH: Pyruvate dehydrogenase phosphatase deficiency: orphan disease or an under-diagnosed condition? Mol Cell Endocrinol 2006;249:1.

Martin E, Rosenthal RE, Fiskum G: Pyruvate dehydrogenase complex: metabolic link to ischemic brain injury and target of oxidative stress. J Neurosci Res 2005;79:240.

Patel MS, Korotchkina LG: Regulation of the pyruvate dehydrogenase complex. Biochem Soc Trans 2006;34:217.

Philp A, Macdonald AL, Watt PW: Lactate—a signal coordinating cell and systemic function. J Exp Biol 2005;208:4561.

Pumain R, Laschet J: A key glycolytic enzyme plays a dual role in GABAergic neurotransmission and in human epilepsy. Crit Rev Neurobiol 2006;18:197.

Rider MH, Bertrand L, Vertommen D, et al: 6-Phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase: head-to-head with a bifunctional enzyme that controls glycolysis. Biochem J 2004;381:561.

Robergs RA, Ghiasvand F, Parker D: Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. Am J Physiol 2004;287:R502.

Sugden MC, Holness MJ: Mechanisms underlying regulation of the expression and activities of the mammalian pyruvate dehydrogenase kinases. Arch Physiol Biochem 2006;112:139.

Wasserman DH: Regulation of glucose fluxes during exercise in the postabsorptive state. Annu Rev Physiol 1995;57:191.

CAPÍTULO

19

Metabolismo del glucógeno

David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir la estructura del glucógeno y su importancia como una reserva de carbohidrato.
- Describir la síntesis de glucógeno y la desintegración del mismo, y la manera en que los procesos son regulados en respuesta a la acción de hormonas.
- Describir los diversos tipos de enfermedades por depósito de glucógeno.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El glucógeno es el principal carbohidrato de almacenamiento en animales; corresponde al almidón en los vegetales; es un polímero ramificado de α-D-glucosa (figura 14-13). Se encuentra sobre todo en hígado y músculos, con cantidades modestas en el cerebro. Aunque el contenido de glucógeno en hígado es mayor que en músculos, dado que la masa muscular del cuerpo es bastante mayor que la del hígado, alrededor de tres cuartas partes del glucógeno corporal total están en el músculo (**cuadro 19-1**).

El glucógeno muscular proporciona una fuente fácilmente disponible de glucosa 1-fosfato para glucólisis dentro del músculo en sí. El glucógeno hepático funciona para almacenar glucosa y exportarla para mantener la concentración de **glucosa en sangre** durante el estado de ayuno. La concentración de glucógeno en el hígado es de alrededor de 450 mM después de una comida; disminuye a alrededor de 200 mM tras ayuno de toda la noche; luego de 12 a 18 horas de ayuno, el glucógeno hepático está agotado casi en su totalidad. Si bien el glucógeno hepático no produce de manera directa glucosa libre (porque el músculo carece de glucosa 6-fosfatasa), el piruvato formado mediante glucólisis en el músculo puede pasar por transaminación hacia alanina, que se exporta desde el músculo y se usa para gluconeogénesis en el hígado (figura 20-4). Las **enfermedades por depósito de glucógeno** son un grupo de trastornos hereditarios que se caracterizan por movilización deficiente de glucógeno o depósito de formas anormales del mismo, lo que lleva a daño hepático y debilidad muscular; algunas de estas enfermedades dan por resultado muerte temprana.

La estructura muy ramificada del glucógeno (figura 14-13) proporciona un gran número de sitios para glucogenólisis, lo cual permite la liberación rápida de glucosa 1-fosfato para actividad muscular. Los atletas de resistencia requieren liberación más lenta y más sostenida de glucosa 1-fosfato. La formación de puntos de ramificación en el glucógeno es más lenta que la adición de unidades de glucosa a una cadena lineal, y algunos atletas de resistencia practican **carga de carbohidratos**: hacer ejercicio hasta quedar exhausto (cuando el glucógeno muscular está agotado en su mayor parte), seguido por una comida con alto contenido de carbohidratos, lo que da por resultado síntesis rápida de glucógeno, con menos puntos de ramificación que lo normal.

LA GLUCOGÉNESIS OCURRE DE MANERA PRINCIPAL EN MÚSCULO E HÍGADO

La vía de la biosíntesis de glucógeno implica un nucleótido especial de la glucosa

Al igual que en la glucólisis, la glucosa se fosforila hacia glucosa 6-fosfato, lo cual es catalizado por la **hexocinasa** en el músculo y la **glucocinasa** en el hígado (**figura 19-1**). La glucosa 6-fosfato se isomeriza hacia glucosa 1-fosfato mediante la **fosfoglucomutasa**. La enzima en sí está fosforilada y el grupo fosfato participa en una reacción reversible en la cual la glucosa 1,6-bisfosfato es un intermediario. A continuación, la glucosa 1-fosfato reacciona con uridina trifosfato (UTP) para formar el nucleótido activo **uridina difosfato glucosa (UDPGlc)** y pirofosfato (**figura 19-2**), catalizado por la **UDPGlc pirofosforilasa**. La reacción procede en la dirección de la formación de UDPGlc porque la **pirofosfatasa** cataliza la hidrólisis de pirofosfato hacia 2 × fosfato, de modo que se elimina uno de los productos de la reacción. La UDPGlc pirofosforilasa tiene una K_m baja para la glucosa 1-fosfato, y está presente en cantidades relativamente grandes, de modo que no es un paso regulador en la síntesis de glucógeno.

CUADRO 19–1 Almacenamiento de carbohidratos en un ser humano de 70 kg de peso

	Porcentaje de peso del tejido	Peso del tejido	Contenido corporal (g)
Glucógeno hepático	5.0	1.8 kg	90
Glucógeno muscular	0.7	35 kg	245
Glucosa extracelular	0.1	10 L	10

FIGURA 19–2 Uridina difosfato glucosa (UDPGlc).

Los pasos iniciales de la síntesis de glucógeno involucran a la **glucogenina**, una proteína de 37 kDa que es glucosilada en un residuo tirosina específico por UDPGlc. La glucogenina cataliza la transferencia de otros siete residuos de glucosa desde UDPGlc, en enlace 1 → 4, para formar un **cebador de glucógeno** que es el sustrato para la glucógeno sintasa. En el músculo la glucogenina permanece en el centro del gránulo de glucógeno (figura 14-13), pero en el hígado muchos gránulos de glucógeno carecen de una molécula de glucogenina central. La **glucógeno sintasa** cataliza la formación de un enlace glucosilo entre el C-1 de la glucosa de la UDPGlc y el C-4 de un residuo de glucosa terminal de glucógeno, lo que libera difosfato de uridina (UDP).

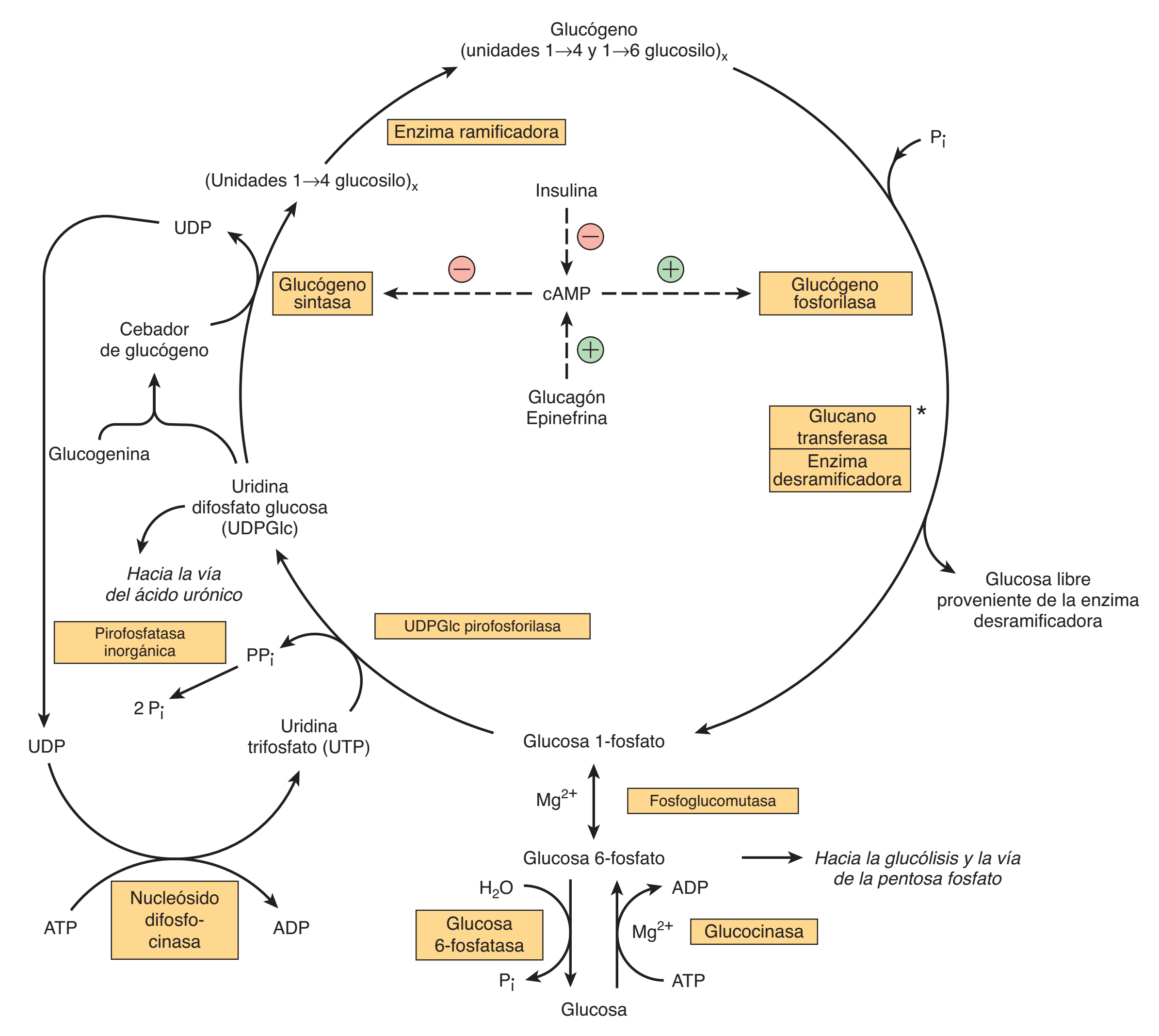


FIGURA 19–1 Vías de la glucogénesis y de la glucogenólisis en el hígado. (⊕, estimulación; ⊖, inhibición.) La insulina disminuye la concentración de cAMP sólo después de que ha sido aumentada por el glucagón o epinefrina; es decir, antagoniza su acción. El glucagón es activo en el músculo cardiaco, pero no en el músculo esquelético. *La glucano transferasa y la enzima desramificadora parecen ser dos actividades separadas de la misma enzima.

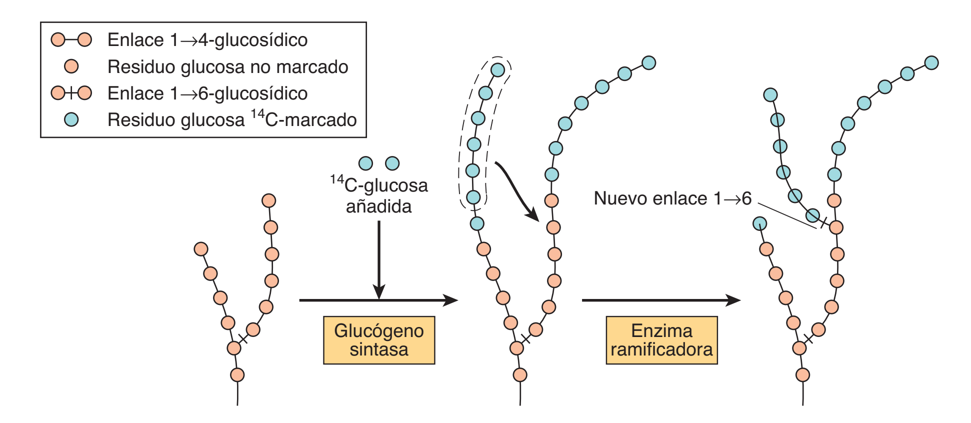


FIGURA 19–3 La biosíntesis de glucógeno. El mecanismo de ramificación según se revela por alimentación con glucosa ^{14}C-marcada, y examen del glucógeno hepático a intervalos.

La adición de un residuo de glucosa a una cadena de glucógeno preexistente, o "cebador", ocurre en el extremo externo, no reductor, de la molécula, de modo que las ramas de la molécula de glucógeno quedan alargadas conforme se forman enlaces 1 → 4 sucesivos (**figura 19-3**).

La ramificación comprende el desprendimiento de cadenas de glucógeno existentes

Cuando la cadena en crecimiento tiene al menos 11 residuos de glucosa de largo, la **enzima ramificadora** transfiere una parte de la cadena 1 → 4 (por lo menos seis residuos de glucosa) hacia una cadena vecina para formar un enlace 1 → 6, lo que establece un **punto de ramificación**. Las ramas crecen mediante adiciones extra de unidades 1 → 4-glucosilo y ramificación adicional.

LA GLUCOGENÓLISIS NO ES EL INVERSO DE LA GLUCOGÉNESIS, SINO QUE ES UNA VÍA SEPARADA

La **glucógeno fosforilasa** cataliza el paso limitador en la glucogenólisis al catalizar la división fosforolítica (fosforólisis; de hidrólisis) de los enlaces 1 → 4 del glucógeno para dar glucosa 1-fosfato (**figura 19-4**). Hay distintas isoenzimas de la glucógeno fosforilasa en el hígado, el músculo y el cerebro, codificadas por genes separados. La glucógeno fosforilasa requiere fosfato de piridoxal (cap. 44) como su coenzima. Al contrario de las reacciones del metabolismo de aminoácidos (cap. 29), en las cuales el aldehído es el grupo reactivo, en la fosforilasa es el grupo fosfato el que tiene actividad catalítica.

Los residuos glucosilo terminales de las cadenas más externas de la molécula de glucógeno se eliminan de manera secuencial hasta que quedan alrededor de cuatro residuos glucosa a uno u otro lado de una rama 1 → 6 (**figura 19-4**). La **enzima desramificadora** tiene dos sitios catalíticos separados en una cadena polipeptídica única. Uno es una glucano transferasa que transfiere una unidad de trisacárido de una rama a la otra, lo que expone el punto de ramificación 1 → 6. El otro es una 1,6-glucosidasa que cataliza la hidrólisis del enlace de glucógeno 1 → 6 para liberar glucosa libre. Entonces puede proceder acción adicional de fosforilasa. La acción combinada de la fosforilasa y estas otras enzimas lleva a la desintegración completa del glucógeno.

La reacción catalizada por la fosfoglucomutasa es reversible, de modo que puede formarse glucosa 6-fosfato a partir de glucosa 1-fosfato. En **hígado**, no así en el músculo, la **glucosa 6-fosfatasa** cataliza la hidrólisis de la glucosa 6-fosfato, lo que da glucosa que se exporta, y lleva a un incremento de la concentración de glucosa en la sangre. La glucosa 6-fosfatasa está en la luz del retículo endoplásmico liso, y los defectos genéticos del transportador de glucosa 6-fosfato pueden causar una variante de la enfermedad por depósito de glucógeno tipo I (**cuadro 19-2**).

Los gránulos de glucógeno también pueden ser fagocitados por **lisosomas**, donde la maltasa ácida cataliza la hidrólisis de glucógeno hacia glucosa. Esto puede ser en especial importante en la homeostasis de la glucosa en recién nacidos, pero la falta genética de maltosa ácida lisosomal lleva a enfermedad por depósito de glucógeno tipo II (enfermedad de Pompe, cuadro

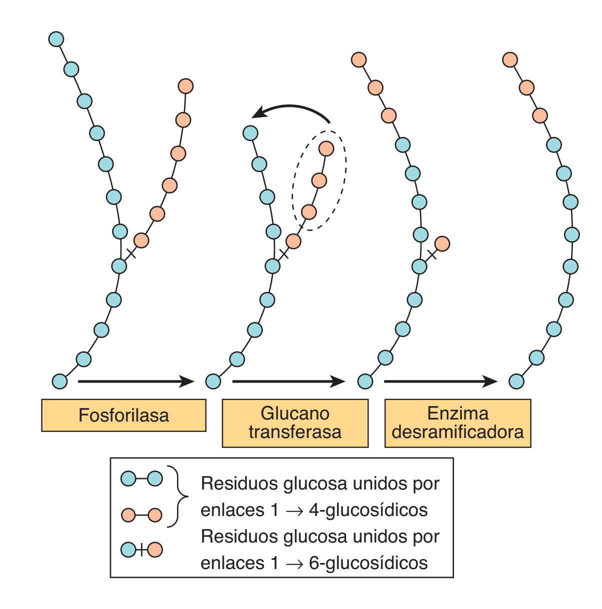


FIGURA 19–4 Pasos en la glucogenólisis.

CUADRO 19–2 Enfermedades por depósito de glucógeno

Tipo	Nombre	Enzima deficiente	Datos clínicos
0	—	Glucógeno sintasa	Hipoglucemia; hipercetonemia; muerte temprana
Ia	Enfermedad de Von Gierke	Glucosa 6-fosfatasa	Acumulación de glucógeno en el hígado y en células de los túbulos renales; hipoglucemia; acidemia láctica; cetosis; hiperlipidemia
Ib	—	Transportador de glucosa 6-fosfato del retículo endoplásmico	Como en el tipo Ia; neutropenia y función de neutrófilos alterada que llevan a infecciones recurrentes
II	Enfermedad de Pompe	$\alpha_1 \rightarrow 4$ y $\alpha_1 \rightarrow 6$ glucosidasa (maltosa ácida) lisosomal	Acumulación de glucógeno en lisosomas: variante de inicio juvenil, hipotonía muscular, muerte por insuficiencia cardiaca hacia los dos años de edad; variante de inicio en el adulto, distrofia muscular
IIIa	Dextrinosis límite, enfermedad de Forbe o de Cori	Enzima desramificadora hepática y muscular	Hipoglucemia en ayuno; hepatomegalia durante la lactancia; acumulación de polisacárido ramificado característico (dextrina límite); debilidad muscular
IIIb	Dextrinosis límite	Enzima desramificadora hepática	Como en el tipo IIIa, pero sin debilidad muscular
IV	Amilopectinosis, enfermedad de Andersen	Enzima ramificadora	Hepatosplenomegalia; acumulación de polisacárido con pocos puntos de ramificación; muerte por insuficiencia cardiaca o hepática antes de los cinco años de edad
V	Deficiencia de miofosforilasa, síndrome de McArdle	Fosforilasa muscular	Poca tolerancia al ejercicio; glucógeno muscular anormalmente alto (2.5 a 4%); lactato en sangre muy bajo después de ejercicio
VI	Enfermedad de Hers	Fosforilasa hepática	Hepatomegalia; acumulación de glucógeno en el hígado; hipoglucemia leve; por lo general buen pronóstico
VII	Enfermedad de Tarui	Fosfofructocinasa 1 muscular y de eritrocitos	Poca tolerancia al ejercicio; glucógeno muscular anormalmente alto (2.5 a 4%); lactato en sangre muy bajo después de ejercicio; anemia hemolítica
VIII		Fosforilasa cinasa hepática	Hepatomegalia; acumulación de glucógeno en el hígado; hipoglucemia leve; por lo general buen pronóstico
IX		Fosforilasa cinasa hepática y muscular	Hepatomegalia; acumulación de glucógeno en el hígado y el músculo; hipoglucemia leve; por lo general buen pronóstico
X		Proteína cinasa dependiente de cAMP	Hepatomegalia; acumulación de glucógeno en el hígado

19-2). El catabolismo lisosomal del glucógeno está bajo control hormonal.

EL AMP CÍCLICO INTEGRA LA REGULACIÓN DE LA GLUCOGENÓLISIS Y LA GLUCOGÉNESIS

Las principales enzimas que controlan el metabolismo del glucógeno —glucógeno fosforilasa y glucógeno sintasa— están reguladas en direcciones opuestas por mecanismos alostéricos y modificación covalente por fosforilación y desfosforilación reversibles de proteína enzima en respuesta a la acción hormonal (cap. 9). La fosforilación de la glucógeno fosforilasa aumenta su actividad; la fosforilación de la glucógeno sintasa reduce su actividad.

La fosforilación está aumentada en respuesta a monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) (**figura 19-5**) formado a partir del ATP mediante la **adenilil ciclasa** en la superficie interna de membranas celulares en respuesta a hormonas como **epinefrina (adrenalina), norepinefrina (noradrenalina)** y **glucagón**. La **fosfodiesterasa** hidroliza al cAMP y así termina la acción de hormona; en el hígado la insulina aumenta la actividad de la fosfodiesterasa.

FIGURA 19–5 **Ácido 3′,5′-adenílico (AMP cíclico; cAMP).**

El control de la glucógeno fosforilasa difiere entre el hígado y el músculo

La función del glucógeno en el hígado es proporcionar glucosa libre para exportación a fin de mantener la concentración de glucosa en la sangre, y en el músculo es proporcionar una fuente de glucosa 6-fosfato para glucólisis en respuesta a la necesidad de ATP para la contracción muscular. En ambos tejidos, la enzima es activada por fosforilación catalizada por la fosforilasa cinasa (para dar fosforilasa a) y desactivada por desfosforilación catalizada por la fosfoproteína fosfatasa (para dar fosforilasa b), en respuesta a señales hormonales y de otros tipos.

Hay anulación instantánea de este control hormonal. La fosforilasa a activa en ambos tejidos es inhibida de manera alostérica por el ATP y la glucosa 6-fosfato; en el hígado, no así en el músculo, la glucosa libre también es un inhibidor. La fosforilasa muscular difiere de la isoenzima hepática por cuanto tiene un sitio de unión para 5′ AMP, el cual actúa como un activador alostérico de la forma b desfosforilada (inactiva) de la enzima. El 5′ AMP actúa como una potente señal del estado de energía de la célula muscular; se forma a medida que la concentración de ADP se incrementa (lo que indica la necesidad de metabolismo de sustrato aumentado para permitir la formación de ATP), como resultado de la reacción de adenilato cinasa: 2 × ADP ↔ ATP + 5′ AMP.

El cAMP activa la glucógeno fosforilasa

La fosforilasa cinasa es activada en respuesta al cAMP (**figura 19-6**). El incremento de la concentración de cAMP activa a la **proteína cinasa dependiente de cAMP**, que cataliza la fosforilación por ATP de **fosforilasa cinasa b** inactiva hacia **fosforilasa cinasa a** activa que, a su vez, fosforila a la fosforilasa b hacia fosforilasa a. En el hígado, el cAMP se forma en respuesta a glucagón, que se secreta en respuesta a disminución de la glucosa en la sangre. El músculo es insensible al glucagón; en el músculo, la señal para el aumento de la formación de cAMP es la acción de la norepinefrina, que se secreta en respuesta a miedo o susto, cuando hay necesidad de incremento de la glucogenólisis para permitir actividad muscular rápida.

El Ca^{2+} sincroniza la activación de la glucógeno fosforilasa con la contracción muscular

La glucogenólisis en el músculo aumenta varios cientos de veces al principio de la contracción; la misma señal (aumento de la concentración de ion Ca^{2+} citosólico) es la causa del inicio tanto de contracción como de glucogenólisis. La fosforilasa cinasa muscular, que activa a la glucógeno fosforilasa, es un tetrámero de cuatro subunidades, α, β, γ y δ. Las subunidades α y β contienen residuos serina que son fosforilados por la proteína cinasa dependiente de cAMP. La subunidad δ es idéntica a la proteína de unión a Ca^{2+} **calmodulina** (cap. 42), y se une a cuatro Ca^{2+}. La unión de Ca^{2+} activa el sitio catalítico de la subunidad γ incluso mientras la enzima se encuentra en estado b desfosforilado; la forma fosforilada a sólo está por completo activada en presencia de concentraciones altas de Ca^{2+}.

La glucogenólisis en el hígado puede ser independiente de cAMP

En el hígado, hay activación independiente de cAMP de la glucogenólisis en respuesta a estimulación de receptores α_1 **adrenérgicos** por epinefrina y norepinefrina. Esto comprende la movilización de Ca^{2+} hacia el citosol, seguida por estimulación de una **fosforilasa cinasa sensible a Ca^{2+}/calmodulina**. La glucogenólisis independiente de cAMP también es activada por vasopresina, oxitocina y angiotensina II que actúan por medio de la vía del calcio o del fosfatidilinositol bisfosfato (figura 42-10).

La proteína fosfatasa-1 desactiva a la fosforilasa de glucógeno

La **proteína fosfatasa-1** desfosforila y desactiva tanto a la fosforilasa a como la fosforilasa cinasa a. La proteína fosfatasa-1 es inhibida por una proteína, **inhibidor-1**, que sólo se activa después de que la proteína cinasa dependiente de cAMP la ha fosforilado. De este modo, el cAMP controla tanto la activación como la desactivación de la fosforilasa (figura 19-6). La **insulina** refuerza este efecto al inhibir la activación de la fosforilasa b. Hace esto de manera indirecta al aumentar la captación de glucosa, lo que lleva a incremento de la formación de glucosa 6-fosfato, que es un inhibidor de la fosforilasa cinasa.

Las actividades de la glucógeno sintasa y fosforilasa están reguladas de manera recíproca

Hay diferentes isoenzimas de la glucógeno sintasa en el hígado, el músculo y el cerebro. Al igual que la fosforilasa, la glucógeno sintasa existe en estados tanto fosforilado como no fosforilado, y el efecto de la fosforilación es el inverso de lo que se observa en la fosforilasa (**figura 19-7**). La **glucógeno sintasa a** activa es desfosforilada, y la **glucógeno sintasa b** inactiva es fosforilada.

Seis proteína cinasas diferentes actúan sobre la glucógeno sintasa, y hay al menos nueve residuos serina diferentes en la enzima que pueden ser fosforilados. Dos de las proteína cinasas son dependientes de Ca^{2+}/calmodulina (una de éstas es la fosforilasa cinasa). Otra cinasa es la proteína cinasa dependiente de cAMP, que permite que la acción hormonal mediada por cAMP inhiba la síntesis de glucógeno de manera sincrónica con la activación de la glucogenólisis. La insulina también promueve la glucogénesis en el músculo al mismo tiempo que inhibe la glucogenólisis al aumentar la concentración de glucosa 6-fosfato, que estimula la desfosforilación y activación de la glucógeno

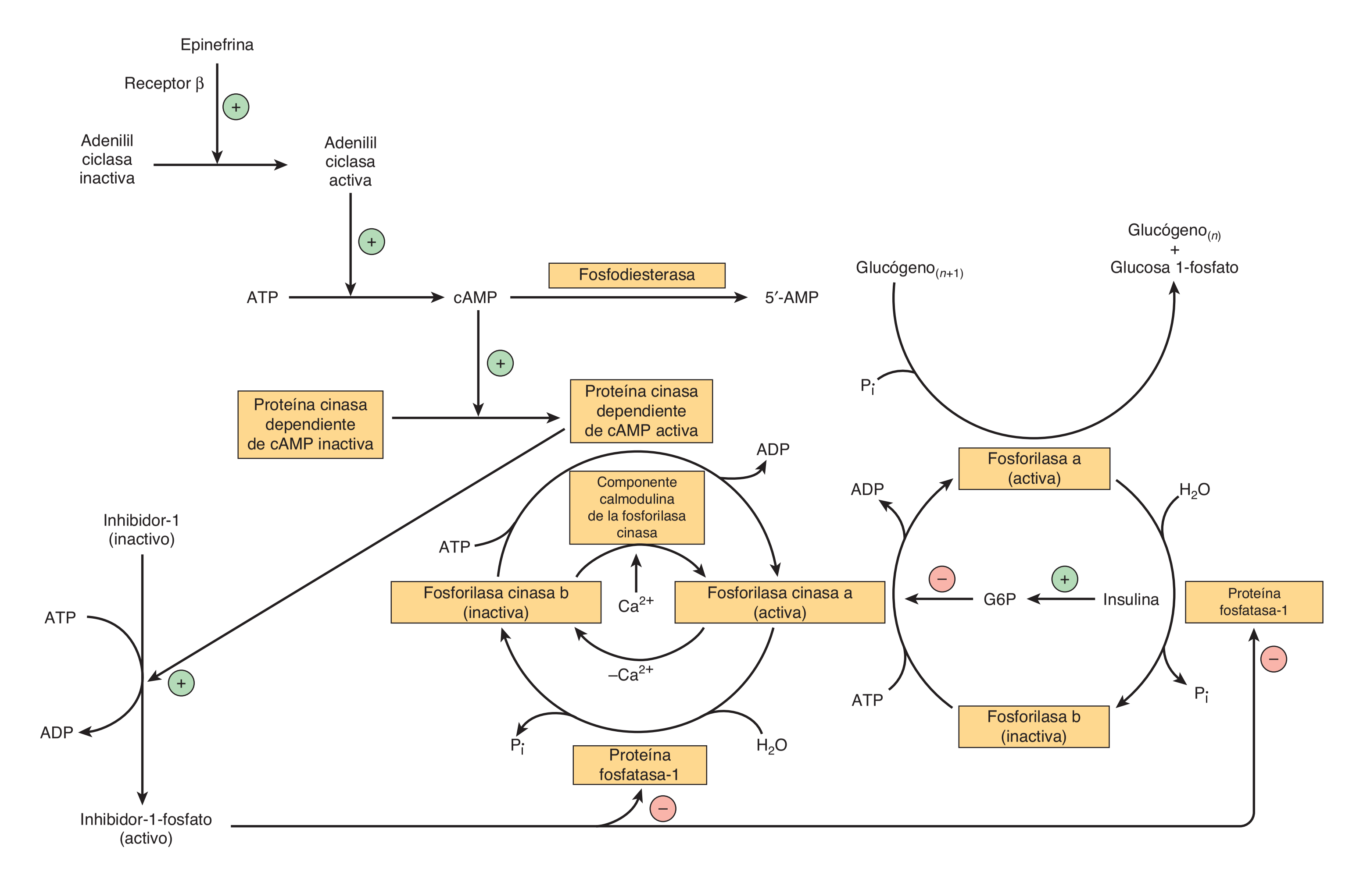


FIGURA 19–6 Control de la fosforilasa en el músculo. La secuencia de reacciones ordenadas como cascada permite la amplificación de la señal hormonal en cada paso. (G6P, glucosa 6-fosfato; *n*, número de residuos de glucosa.)

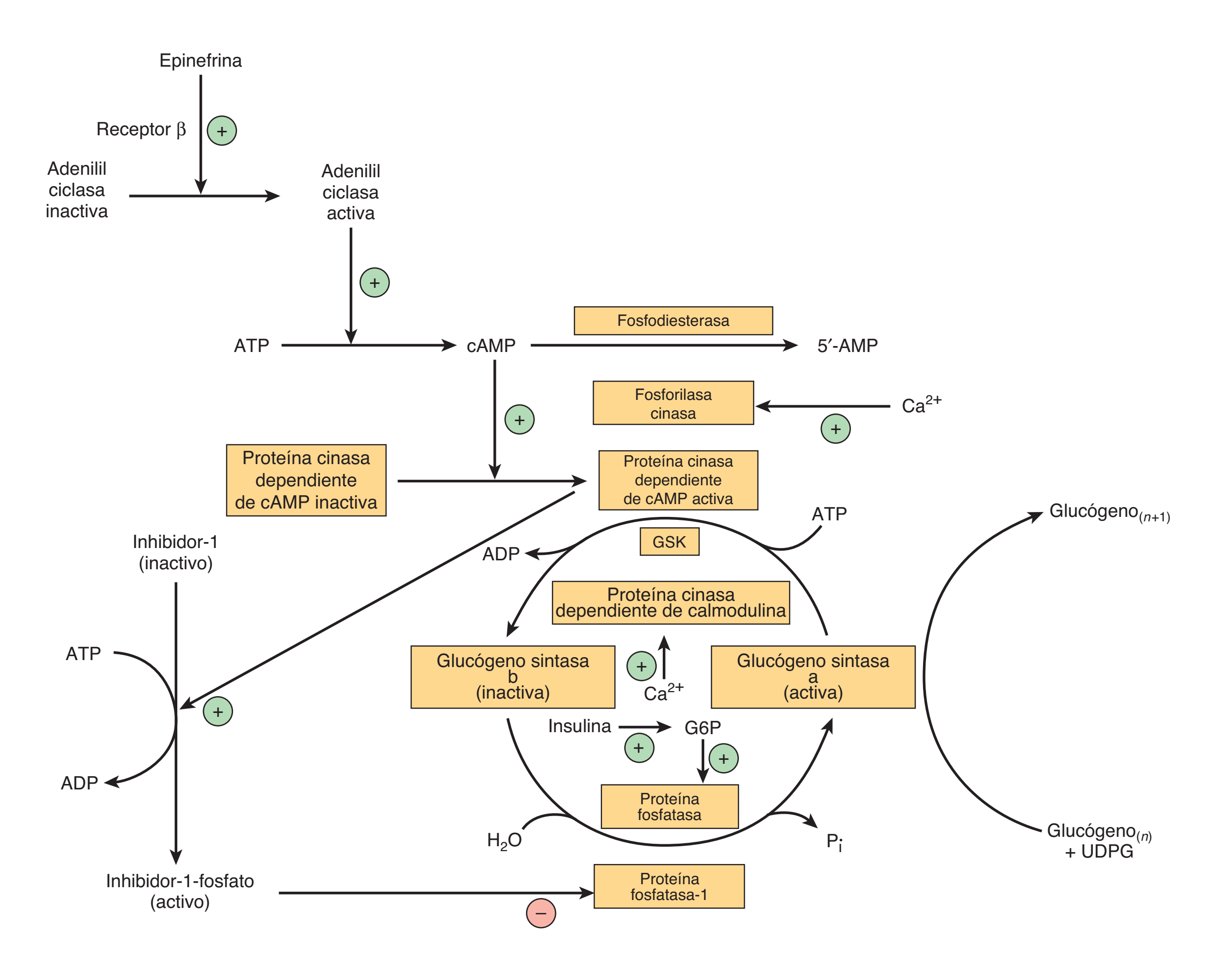


FIGURA 19–7 Control de la glucógeno sintasa en el músculo. (GSK, glucógeno sintasa cinasa; G6P, glucosa 6-fosfato; *n,* número de residuos de glucosa.)

sintasa. La proteína fosfatasa-1, que está bajo el control de la proteína cinasa dependiente de cAMP, desfosforila a la glucógeno sintasa b.

UN EQUILIBRIO DE LAS ACTIVIDADES ENTRE LA GLUCÓGENO SINTASA Y LA FOSFORILASA REGULA EL METABOLISMO DEL GLUCÓGENO

Al mismo tiempo que la fosforilasa es activada por un aumento de la concentración de cAMP (por medio de la fosforilasa cinasa), la glucógeno sintasa es convertida en la forma inactiva; ambos efectos están mediados por la **proteína cinasa dependiente de cAMP** (**figura 19-8**). De este modo, la inhibición de la glucogenólisis aumenta la glucogénesis neta, y la inhibición de la glucogénesis aumenta la glucogenólisis neta. Asimismo, la desfosforilación de la fosforilasa a, fosforilasa cinasa y glucógeno sintasa b es catalizada por una enzima única con especificidad amplia, la **proteína fosfatasa-1**. A su vez, esta última es inhibida por la proteína cinasa dependiente de cAMP por medio del inhibidor-1. De este modo, la glucogenólisis puede terminar, y la glucogénesis puede ser estimulada, o viceversa, de manera sincrónica, porque ambos procesos son dependientes de la actividad de la proteína cinasa dependiente de cAMP. Cinasas y fosfatasas separadas pueden fosforilar de manera reversible en más de un sitio tanto la fosforilasa cinasa como la glucógeno sintasa. Estas fosforilaciones secundarias modifican la sensibilidad de los sitios primarios a la fosforilación y desfosforilación **(fosforilación de múltiples sitios)**. Asimismo, permiten que la insulina, por medio de un incremento de la glucosa 6-fosfato, tenga efectos que actúan de manera recíproca a los del cAMP (figuras 19-6 y 19-7).

ASPECTOS CLÍNICOS

Las enfermedades por depósito de glucógeno son hereditarias

"Enfermedad por depósito de glucógeno" es un término genérico empleado para describir un grupo de trastornos hereditarios caracterizados por depósito de un tipo o cantidad anormal de glucógeno en los tejidos, o fracaso de la movilización de glucógeno. Las principales enfermedades se resumen en el cuadro 19-2.

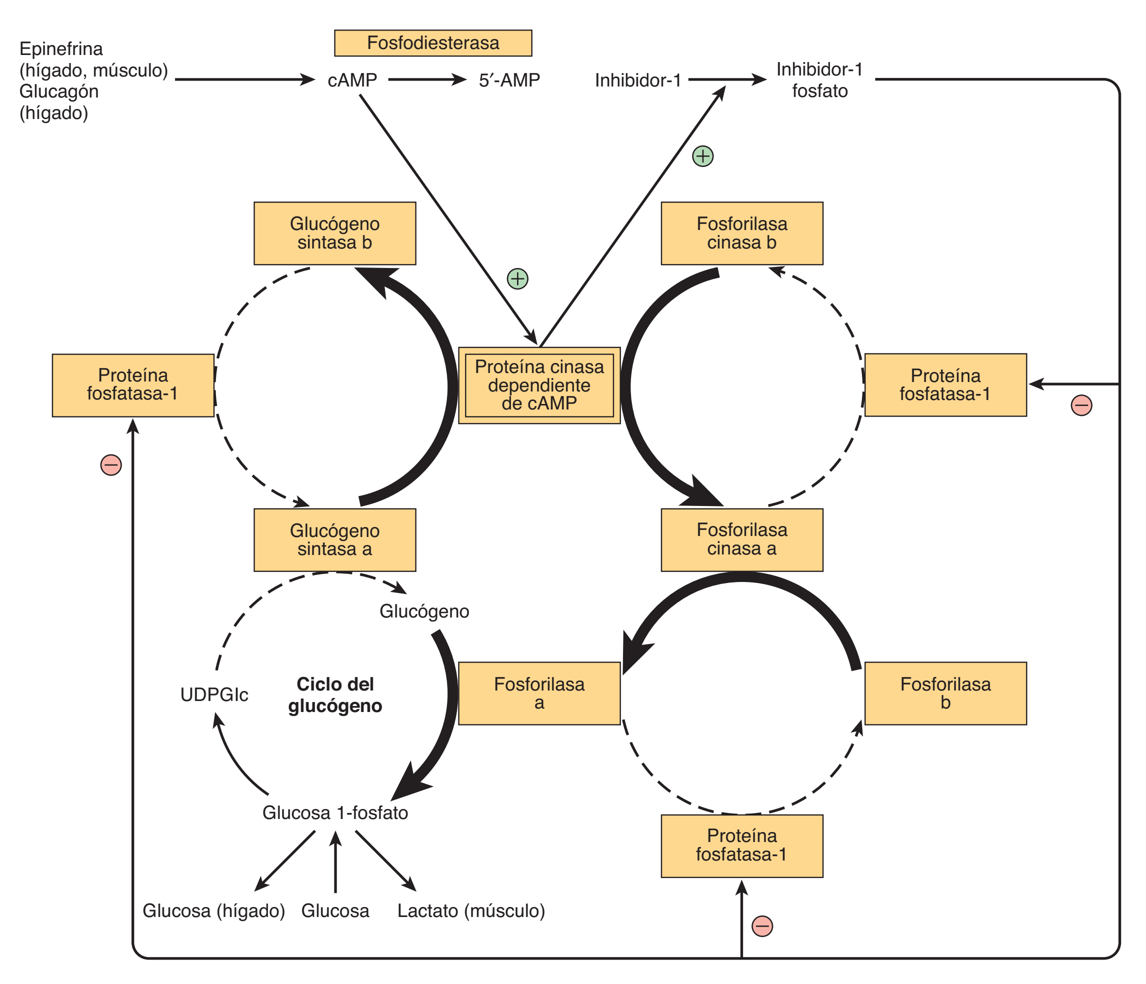


FIGURA 19–8 Control coordinado de la glucogenólisis y la glucogénesis por la proteína cinasa dependiente de cAMP. Las reacciones que llevan a la glucogenólisis como resultado de un incremento de la concentración de cAMP se muestran con flechas gruesas, y las que son inhibidas por la activación de la proteína fosfatasa-1, con flechas discontinuas. Ocurre lo contrario cuando la concentración de cAMP disminuye como resultado de actividad de fosfodiesterasa, lo que lleva a glucogénesis.

RESUMEN

- El glucógeno representa el principal carbohidrato de almacenamiento en el cuerpo, sobre todo en el hígado y el músculo.
- En el hígado, su importante función es proporcionar glucosa para tejidos extrahepáticos. En el músculo, sirve sobre todo como una fuente fácil de combustible metabólico para uso en el músculo. El músculo carece de glucosa 6-fosfatasa y no puede liberar la glucosa libre a partir del glucógeno.
- El glucógeno se sintetiza a partir de la glucosa mediante la vía de la glucogénesis. Se desintegra mediante una vía separada, la glucogenólisis.
- El cAMP integra la regulación de la glucogenólisis y la glucogénesis mediante promover la activación de la fosforilasa y la inhibición de la glucógeno sintasa en forma simultánea. La insulina actúa de manera recíproca al inhibir la glucogenólisis y estimular la glucogénesis.
- Las deficiencias hereditarias de las enzimas del metabolismo del glucógeno tanto en el hígado como en el músculo causan enfermedades por depósito de glucógeno.

REFERENCIAS

Alanso MD, Lomako J, Lomako WM, et al: A new look at the biogenesis of glycogen. FASEB J. 1995;9:1126.

Bollen M, Keppens S, Stalmans W: Specific features of glycogen metabolism in the liver. Biochem J 1998;336:19.

Ferrer JC, Favre C, Gomis RR, et al: Control of glycogen deposition. FEBS Lett 2003;546:127–132.

Forde JE, Dale TC: Glycogen synthase kinase 3: a key regulator of cellular fate. Cell Mol Life Sci 2007;64:1930.

Graham TE, Yuan Z, Hill AK, et al: The regulation of muscle glycogen: the granule and its proteins. Acta Physiol (Oxf) 2010;199:489.

Greenberg CC, Jurczak MJ, Danos AM, et al: Glycogen branches out: new perspectives on the role of glycogen metabolism in the integration of metabolic pathways. Am J Physiol Endocrinol Metab 2006;291:E1.

Jensen J, Lai YC: Regulation of muscle glycogen synthase phosphorylation and kinetic properties by insulin, exercise, adrenaline and role in insulin resistance. Arch Physiol Biochem 2009;115:13.

Jentjens R, Jeukendrup A: Determinants of post-exercise glycogen synthesis during short-term recovery. Sports Med 2003;33:117.

McGarry JD, Kuwajima M, Newgard CB, et al: From dietary glucose to liver glycogen: the full circle round. Annu Rev Nutr 1987;7:51.
Meléndez-Hevia E, Waddell TG, Shelton ED: Optimization of molecular design in the evolution of metabolism: the glycogen molecule. Biochem J 1993;295:477.
Ozen H: Glycogen storage diseases: new perspectives. World J Gastroenterol 2007;13:2541.
Radziuk J, Pye S: Hepatic glucose uptake, gluconeogenesis and the regulation of glycogen synthesis. Diabetes Metab Res Rev 2001;17(4):250.
Roach PJ: Glycogen and its metabolism. Curr Mol Med 2002;2(2):101.
Roden M, Bernroider E: Hepatic glucose metabolism in humans—its role in health and disease. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2003;17:365.
Rybicka KK: Glycosomes—the organelles of glycogen metabolism. Tissue Cell 1996;28:254.
Shearer J, Graham TE: New perspectives on the storage and organization of muscle glycogen. Can J Appl Physiol 2002;27:179.
Shin YS: Glycogen storage disease: clinical, biochemical, and molecular heterogeneity. Semin Pediatr Neurol 2006;13:115.
Wolfsdorf JI, Holm IA: Glycogen storage diseases. Phenotypic, genetic, and biochemical characteristics, and therapy. Endocrinol Metab Clin North Am 1999;28:801.
Yeaman SJ, Armstrong JL, Bonavaud SM, et al: Regulation of glycogen synthesis in human muscle cells. Biochem Soc Trans 2001;29:537.

CAPÍTULO 20

Gluconeogénesis y control de la glucosa en sangre

David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar la importancia de la gluconeogénesis en la homeostasis de la glucosa.
- Describir la vía de la gluconeogénesis, la manera en que se desvía el paso por las enzimas irreversibles de la glucólisis, y cómo la glucólisis y la gluconeogénesis están reguladas de manera recíproca.
- Explicar cómo la concentración plasmática de glucosa se mantiene dentro de límites estrechos en los estados de saciedad y de ayuno.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La gluconeogénesis es el proceso de síntesis de glucosa o de glucógeno a partir de precursores que no son carbohidratos. Los principales sustratos son los aminoácidos glucogénicos (cap. 29), lactato, glicerol y propionato. El hígado y los riñones son los principales tejidos gluconeogénicos; los riñones pueden contribuir con hasta 40% de la síntesis de glucosa total en el estado de ayuno, y con más durante inanición. Las enzimas gluconeogénicas clave se expresan en el intestino delgado, pero no está claro si hay producción significativa de glucosa por el intestino en el estado de ayuno.

Un aporte de glucosa es necesario, en especial para el sistema nervioso y los eritrocitos. Después de un ayuno durante toda la noche, la glucogenólisis (cap. 19) y la gluconeogénesis hacen contribuciones casi iguales a la glucosa en sangre; a medida que las reservas de glucógeno se agotan, la gluconeogénesis se hace progresivamente más importante.

La falla en la gluconeogénesis por lo general es mortal. La **hipoglucemia** causa disfunción cerebral, lo que puede conducir a coma y muerte. La glucosa también tiene importancia en el mantenimiento de la concentración de intermediarios del ciclo del ácido cítrico aun cuando los ácidos grasos son la principal fuente de acetil-CoA en los tejidos. Además, la gluconeogénesis elimina lactato producido por los músculos y los eritrocitos, y glicerol producido por el tejido adiposo. En rumiantes, el propionato es un producto del metabolismo de los carbohidratos en el rumen, y es un sustrato importante para la gluconeogénesis.

La gluconeogénesis excesiva ocurre en **pacientes muy graves** en respuesta a lesión e infección, lo que contribuye a la **hiperglucemia** que se relaciona con mal resultado. La hiperglucemia lleva a cambios de la osmolalidad de los líquidos corporales, flujo sanguíneo alterado, acidosis intracelular, y aumento de la producción de radicales superóxido (cap. 45), lo que da lugar a función alterada del endotelio y del sistema inmunitario, y coagulación sanguínea alterada. La gluconeogénesis excesiva también es un factor contribuidor a la hiperglucemia en la **diabetes tipo 2** debido a sensibilidad alterada de la gluconeogénesis a la regulación descendente en respuesta a la insulina.

LA GLUCONEOGÉNESIS INVOLUCRA GLUCÓLISIS, EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO, MÁS ALGUNAS REACCIONES ESPECIALES

Las barreras termodinámicas impiden una reversión simple de la glucólisis

Tres reacciones no equilibradas en la glucólisis (cap. 18), catalizadas por hexocinasa, fosfofructocinasa y piruvato cinasa, impiden la reversión simple de la glucólisis para la síntesis de glucosa (**figura 20-1**); tales reacciones se esquivan de las siguientes maneras.

Piruvato y fosfoenolpiruvato

La reversión de la reacción catalizada por la piruvato cinasa en la glucólisis involucra dos reacciones endotérmicas. La **piruvato carboxilasa** mitocondrial cataliza la carboxilación de piruvato a oxaloacetato, una reacción que necesita ATP en la cual la vitamina biotina es la coenzima. La biotina se une al CO_2 proveniente de bicarbonato como carboxibiotina antes de la adición del CO_2 al piruvato (figura 44-17). El oxaloacetato resultante es reducido a malato, exportado desde la mitocondria hacia el citosol, y ahí oxidado de regreso a oxaloacetato. Una segunda

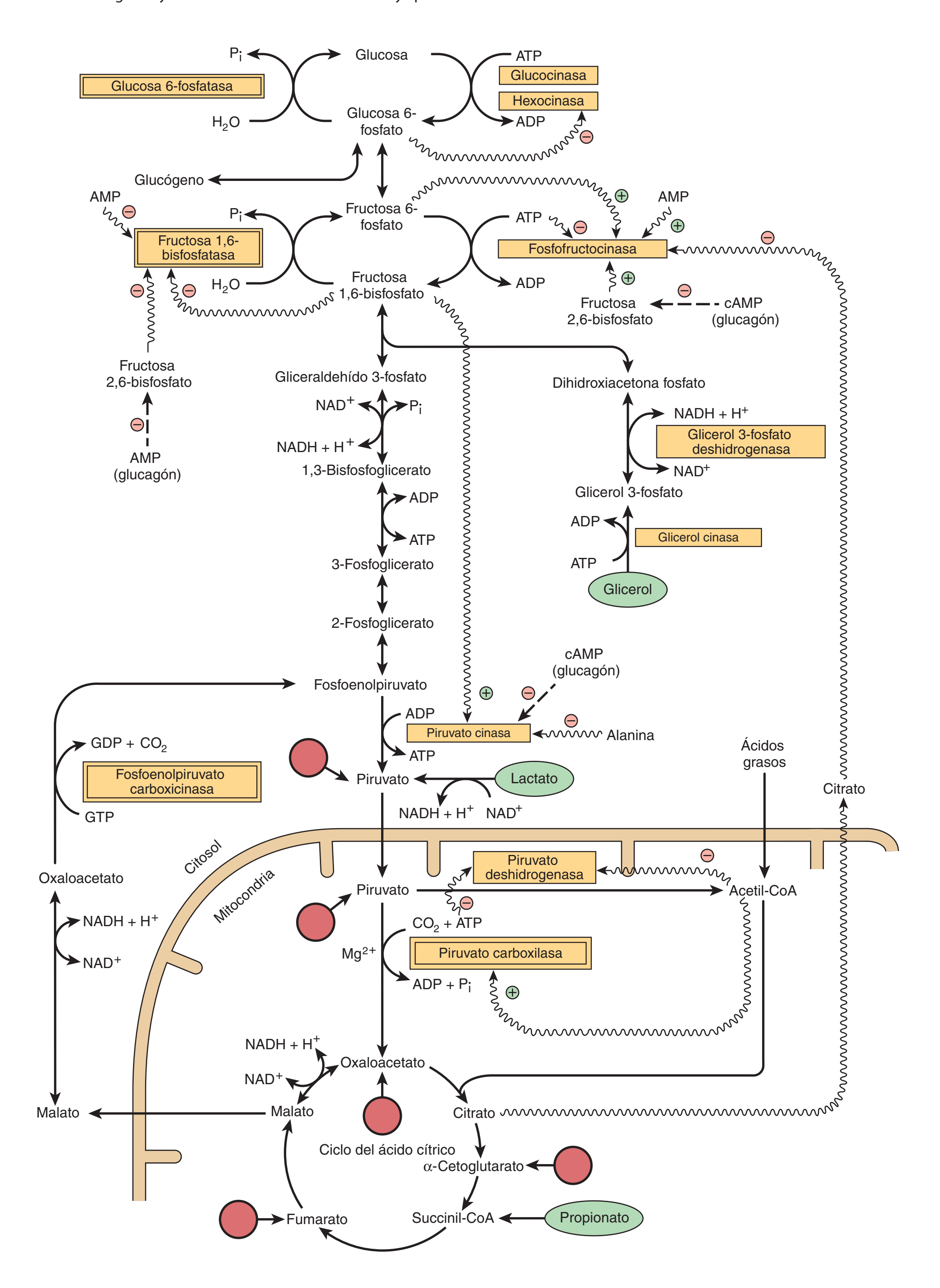


FIGURA 20–1 Principales vías y regulación de la gluconeogénesis y la glucólisis en el hígado. Los puntos de entrada de aminoácidos glucogénicos después de transaminación están indicados con flechas que se extienden desde círculos (véase también la figura 17-4). Las enzimas gluconeogénicas clave están encerradas en recuadros con doble marco. La oxidación de ácidos grasos proporciona el ATP requerido para la gluconeogénesis. El propionato sólo tiene importancia cuantitativa en rumiantes. Las flechas con eje ondulado significan efectos alostéricos, y las flechas con eje discontinuo, la modificación covalente por fosforilación reversible. La concentración alta de alanina actúa como una "señal gluconeogénica" al inhibir la glucólisis en el paso de la piruvato cinasa.

enzima, la **fosfoenolpiruvato carboxicinasa**, cataliza la descarboxilación y fosforilación de oxaloacetato a fosfoenolpiruvato usando GTP como el donador de fosfato. En hígado y riñones, la reacción de la succinato tiocinasa en el ciclo del ácido cítrico (cap. 17) produce GTP (en lugar de ATP como en otros tejidos), y este GTP se usa para la reacción de fosfoenolpiruvato carboxicinasa, lo que proporciona un enlace entre la actividad del ciclo del ácido cítrico y la gluconeogénesis, con el fin de prevenir la eliminación excesiva de oxaloacetato para gluconeogénesis, lo que alteraría la actividad del ciclo del ácido cítrico.

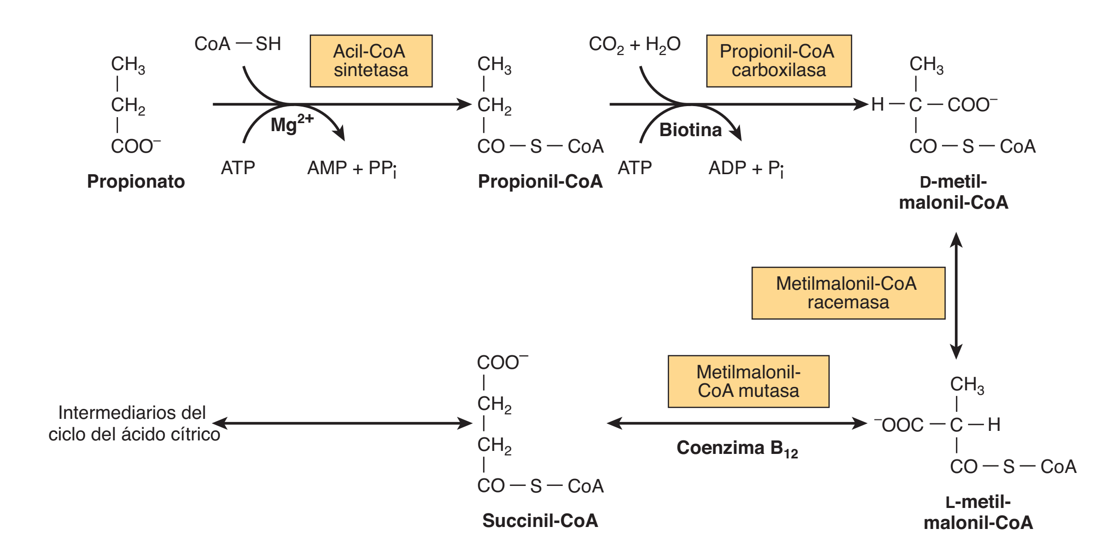


FIGURA 20–2 **Metabolismo del propionato.**

Fructosa 1,6-bisfosfato y fructosa 6-fosfato

La **fructosa 1,6-bisfosfatasa** cataliza la conversión de fructosa 1,6-bisfosfato en fructosa 6-fosfato, para la reversión de la glucólisis. Su presencia determina si un tejido tiene la capacidad para sintetizar glucosa (o glucógeno) no sólo a partir de piruvato, sino también a partir de triosas fosfato. Está presente en el hígado, los riñones y el músculo estriado, pero probablemente falta en el corazón y el músculo liso.

Glucosa 6-fosfato y glucosa

La **glucosa 6-fosfatasa** cataliza la conversión de glucosa 6-fosfato en glucosa. Dicha enzima está presente en hígado y riñones, pero falta en el músculo y el tejido adiposo, que, en consecuencia, no pueden exportar glucosa hacia el torrente sanguíneo.

Glucosa 1-fosfato y glucógeno

La fosforilasa cataliza la degradación de glucógeno a glucosa 1-fosfato. La síntesis de glucógeno comprende una vía diferente por medio de la uridina difosfato glucosa y la **glucógeno sintasa** (figura 19-1).

En la figura 20-1 se muestran las relaciones entre gluconeogénesis y la vía glucolítica. Luego de transaminación o desaminación, los aminoácidos glucogénicos dan piruvato o intermediarios del ciclo del ácido cítrico. Por ende, las reacciones antes descritas pueden explicar la conversión tanto de lactato como de aminoácidos glucogénicos en glucosa o glucógeno.

El propionato es un precursor importante de la glucosa en rumiantes; entra en la gluconeogénesis por medio del ciclo del ácido cítrico. Después de esterificación con CoA, la propionil-CoA es carboxilada hacia D-metilmalonil-CoA, lo cual es catalizado por la **propionil-CoA carboxilasa**, una enzima dependiente de biotina (**figura 20-2**). La **metilmalonil-CoA racemasa** cataliza la conversión de D-metilmalonil-CoA en L-metilmalonil-CoA, que luego pasa por isomerización hacia succinil-CoA, catalizada por la **metilmalonil-CoA mutasa**. En no rumiantes, incluso seres humanos, el propionato surge a partir de la β-oxidación de ácidos grasos de cadena impar que se encuentran en lípidos de rumiante (cap. 22), así como la oxidación de isoleucina y la cadena lateral de colesterol, y es un sustrato (relativamente menor) para la gluconeogénesis. La metilmalonil-CoA mutasa es una enzima dependiente de vitamina B_{12}, y en la deficiencia el ácido metilmalónico se excreta en la worina **(aciduria metilmalónica)**.

El glicerol se libera a partir del tejido adiposo como resultado de lipólisis del triacilglicerol de las lipoproteínas en el estado posprandial; puede usarse para reesterificación de ácidos grasos libres hacia triacilglicerol en el tejido adiposo o el hígado, o puede ser un sustrato para la gluconeogénesis en el hígado. En el estado de ayuno el glicerol liberado a partir de la lipólisis del triacilglicerol del tejido adiposo se usa únicamente como un sustrato para la gluconeogénesis en el hígado y los riñones.

DADO QUE LA GLUCÓLISIS Y LA GLUCONEOGÉNESIS COMPARTEN LA MISMA VÍA PERO EN DIRECCIONES OPUESTAS, ES NECESARIO QUE SE REGULEN DE MODO RECÍPROCO

Los cambios de la disponibilidad de sustratos son la causa de la mayor parte de las modificaciones del metabolismo al actuar de manera directa o indirecta por medio de variaciones de la secreción de hormona. Tres mecanismos se encargan de regular la actividad de enzimas vinculadas con el metabolismo de carbohidratos: 1) cambios del índice de síntesis de enzima,

CUADRO 20–1 Regulación y adaptación de enzimas relacionadas con el metabolismo de carbohidratos

	Actividad en					
	Ingesta de carbohidratos	**Ayuno y diabetes**	**Inductor**	**Represor**	**Activador**	**Inhibidor**
Glucogenólisis, glucólisis y oxidación de piruvato						
Glucógeno sintasa	↑	↓			Insulina, glucosa 6-fosfato	Glucagón
Hexocinasa						Glucosa 6-fosfato
Glucocinasa	↑	↓	Insulina	Glucagón		
Fosfofructocinasa-1	↑	↓	Insulina	Glucagón	5′AMP, fructosa 6-fosfato, fructosa 2,6-bisfosfato, P_i	Citrato, ATP, glucagón
Piruvato cinasa	↑	↓	Insulina, fructosa	Glucagón	Fructosa 1,6-bisfosfato, insulina	ATP, alanina, glucagón, norepinefrina
Piruvato deshidrogenasa	↑	↓			CoA, NAD^+, insulina, ADP, piruvato	Acetil CoA, NADH, ATP (ácidos grasos, cuerpos cetónicos)
Gluconeogénesis						
Piruvato carboxilasa	↓	↑	Glucocorticoides, glucagón, epinefrina	Insulina	Acetil CoA	ADP
Fosfoenolpiruvato carboxicinasa	↓	↑	Glucocorticoides, glucagón, epinefrina	Insulina	¿Glucagón?	
Glucosa 6-fosfatasa	↓	↑	Glucocorticoides, glucagón, epinefrina	Insulina		

2) modificación covalente por medio de fosforilación reversible y 3) efectos alostéricos.

La inducción y represión de enzimas clave requiere varias horas

El **cuadro 20-1** lista los cambios de la actividad enzimática en el hígado que ocurren en diversos estados metabólicos. Las enzimas involucradas catalizan reacciones no equilibradas (irreversibles desde el punto de vista fisiológico). Los efectos por lo común se refuerzan porque la actividad de las enzimas que catalizan las reacciones en la dirección opuesta varía de modo recíproco (figura 20-1). Las enzimas comprendidas en la utilización de glucosa (es decir, las de la glucólisis y la lipogénesis) se tornan más activas cuando hay superfluidez de glucosa, y en estas condiciones las enzimas de la gluconeogénesis tienen actividad baja. La insulina, misma que es secretada en respuesta a glucosa sanguínea aumentada, incrementa la síntesis de las enzimas clave en la glucólisis. También antagoniza el efecto de los glucocorticoides y del cAMP estimulado por glucagón, que induce la síntesis de las enzimas clave de la gluconeogénesis.

La modificación covalente por medio de fosforilación reversible es rápida

El **glucagón** y la **epinefrina**, hormonas de las cuales depende una disminución de la glucosa en la sangre, inhiben la glucólisis y estimulan la gluconeogénesis en el hígado al aumentar la concentración de cAMP. Esto, a su vez, activa a la proteína cinasa dependiente de cAMP, lo que da pie a la fosforilación y desactivación de la **piruvato cinasa**. Asimismo, afectan las cifras de la fructosa 2,6-bisfosfato y, por consiguiente, la glucólisis y la gluconeogénesis (véase más adelante).

La modificación alostérica es instantánea

En la gluconeogénesis, la piruvato carboxilasa, que cataliza la síntesis de oxaloacetato a partir de piruvato, necesita acetil-CoA como un **activador alostérico**. La adición de acetil-CoA suscita un cambio de la estructura terciaria de la proteína, lo que origina decremento de la K_m para bicarbonato. Esto significa que a medida que se forma acetil-CoA a partir de piruvato, asegura de manera automática el suministro de oxaloacetato y, por tanto, su oxidación adicional en el ciclo del ácido cítrico, al activar a la piruvato carboxilasa. La activación de esta última, y la

inhibición recíproca de piruvato deshidrogenasa por la acetil-CoA derivada de la oxidación de ácidos grasos, explican la acción de la oxidación de ácidos grasos en limitar la oxidación de piruvato y la estimulación de la gluconeogénesis. La relación recíproca entre estas dos enzimas altera el destino metabólico del piruvato a medida que el tejido cambia desde la oxidación de carbohidratos (glucólisis) hacia gluconeogénesis en el transcurso de la transición desde el estado posprandial hacia el de ayuno (figura 20-1). Una función importante de la oxidación de ácidos grasos en la promoción de la gluconeogénesis es suministrar el ATP requerido.

La **fosfofructocinasa (fosfofructocinasa-1)** ocupa una posición clave en la regulación de la glucólisis, y queda sujeta también a control por retroacción. Es inhibida por citrato y por concentraciones intracelulares normales de ATP, y activada por el 5′AMP. Este último actúa como un indicador del estado de energía de la célula. La presencia de **adenilil cinasa** en el hígado y muchos otros tejidos permite el equilibrio rápido de la reacción

$$2ADP \leftrightarrow ATP + 5'\,AMP$$

Así, cuando se usa ATP en procesos que requieren energía, lo que da por resultado formación de ADP, el [AMP] aumenta. Una aminoración hasta cierto punto pequeña del [ATP] causa un incremento considerable del [AMP], de modo que este último actúa como un amplificador metabólico de un cambio pequeño de [ATP] y, en consecuencia, una señal sensible del estado de energía de la célula. De esta manera, la actividad de la fosfofructocinasa-1 está regulada en respuesta al estado de energía de la célula para controlar la cantidad de carbohidrato que está pasando por glucólisis antes de su entrada hacia el ciclo del ácido cítrico. De modo simultáneo, el AMP activa a la fosforilasa, lo que aumenta la glucogenólisis. Una consecuencia de la inhibición de la fosfofructocinasa-1 es una acumulación de glucosa 6-fosfato que, a su vez, inhibe la captación adicional de glucosa en tejidos extrahepáticos mediante inhibición de la hexocinasa.

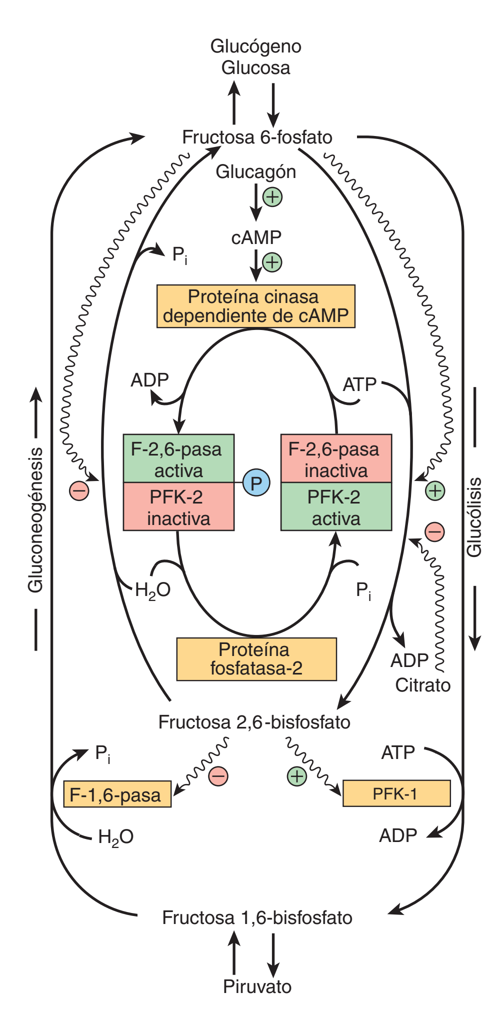


FIGURA 20–3 Control de la glucólisis y la gluconeogénesis en el hígado por medio de la fructosa 2,6-bisfosfato y la enzima bifuncional PFK-2/F-2,6-Pasa (6-fosfofructo-2-cinasa/fructosa 2,6-bisfosfatasa). (PKF-1, fosfofructocinasa-1 [6-fosfofructo-1-cinasa]; F-1,6-Pasa, fructosa 1,6-bisfosfatasa.) Las flechas onduladas indican efectos alostéricos.

La fructosa 2,6-bisfosfato desempeña una función singular en la regulación de la glucólisis y la gluconeogénesis en el hígado

La **fructosa 2,6-bisfosfato** es el más potente activador alostérico positivo de la fosfofructocinasa-1, e inhibidor de la fructosa 1,6-bisfosfatasa en el hígado. Contrarresta la inhibición de la fosfofructocinasa-1 por el ATP, y aumenta la afinidad por la fructosa 6-fosfato. Inhibe la fructosa 1,6-bisfosfatasa al incrementar la K_m para la fructosa 1,6-bisfosfato. Sus cifras están bajo control tanto de sustrato (alostérico) como hormonal (modificación covalente) (**figura 20-3**).

La fructosa 2,6-bisfosfato se forma por fosforilación de la fructosa 6-fosfato por la **fosfofructocinasa-2**. La misma proteína enzima también se encarga de su desintegración, porque tiene actividad de **fructosa 2,6-bisfosfatasa**. Esta **enzima bifuncional** está bajo el control alostérico de la fructosa 6-fosfato, que estimula a la cinasa e inhibe a la fosfatasa. Por ende, cuando hay aporte abundante de glucosa, aumenta la concentración de fructosa 2,6-bisfosfato, lo que estimula la glucólisis al activar a la fosfofructocinasa-1 e inhibir a la fructosa 1,6-bisfosfatasa. En el estado de ayuno, el glucagón estimula la producción de cAMP, lo que activa a la proteína cinasa dependiente de cAMP que, a su vez, desactiva a la fosfofructocinasa-2 y activa a la fructosa 2,6-bisfosfatasa por medio de fosforilación. Por consiguiente, la gluconeogénesis es estimulada por un decremento de la concentración de fructosa 2,6-bisfosfato, lo que desactiva a la fosfofructocinasa-1 y elimina la inhibición de fructosa 1,6-bisfosfatasa. La xilulosa 5-fosfato, un intermediario de la vía de la pentosa fosfato (cap. 21), activa la proteína fosfatasa que desfosforila la enzima bifuncional, de modo que aumenta la formación de fructosa 2,6-bisfosfato e incrementa la tasa de glucólisis. Esto lleva a aumento del flujo por la glucólisis y la vía de la pentosa fosfato, e incremento de la síntesis de ácidos grasos (cap. 23).

Los ciclos de sustrato (fútil) permiten ajuste fino y respuesta rápida

Los puntos de control en la glucólisis y el metabolismo del glucógeno incluyen un ciclo de fosforilación y desfosforilación

catalizado por la glucocinasa y la glucosa 6-fosfatasa; la fosfofructocinasa-1 y la fructosa 1,6-bisfosfatasa; la piruvato cinasa, piruvato carboxilasa y fosfoenolpiruvato carboxicinasa, y la glucógeno sintasa y fosforilasa. Parecería obvio que estas enzimas que se oponen están reguladas de tal manera que cuando las que participan en la glucólisis están activas, las que lo hacen en la gluconeogénesis están inactivas, porque de otro modo estarían pasando por ciclos entre intermediarios fosforilados y no fosforilados, con hidrólisis neta de ATP. Aun cuando esto es así, en el músculo tanto la fosfofructocinasa como la fructosa 1,6-bisfosfatasa tienen cierta actividad en todo momento, de manera que en realidad hay cierta medida de paso por ciclos de sustrato (con derroche). Esto permite el aumento muy rápido del índice de glucólisis necesario para la contracción muscular. En reposo el índice de actividad de fosfofructocinasa es alrededor de 10 veces más alto que el de la fructosa 1,6-bisfosfatasa; en anticipación de contracción muscular, la actividad de ambas enzimas aumenta, la de fructosa 1,6-bisfosfatasa 10 veces más que la de la fosfofructocinasa, lo que mantiene el mismo índice neto de glucólisis. Al principio de la contracción muscular, la actividad de la fosfofructocinasa aumenta más, y hay decremento de la de fructosa 1,6-bisfosfatasa, lo que incrementa el índice neto de glucólisis (y, por tanto, la formación de ATP) hasta 1 000 veces.

LA CONCENTRACIÓN SANGUÍNEA DE GLUCOSA ESTÁ REGULADA DENTRO DE LÍMITES ESTRECHOS

En el estado posterior a la absorción, las cifras de glucosa en la sangre en casi todos los mamíferos se mantienen entre 4.5 y 5.5 mmol/L. Después de la ingestión de una comida de carbohidrato, llegan a aumentar hasta 6.5 a 7.2 mmol/L, y en la inanición, pueden descender hasta 3.3 a 3.9 mmol/L. Una disminución repentina de la glucosa en la sangre (p. ej., en respuesta a sobredosis de insulina) causa convulsiones, debido a la dependencia del cerebro de un aporte de glucosa. Sin embargo, es posible que se toleren concentraciones mucho menores si la hipoglucemia sobreviene con suficiente lentitud como para que haya adaptación. La concentración de glucosa en la sangre en aves es bastante más alta (14.0 mmol/L), y en rumiantes mucho más baja (alrededor de 2.2 mmol/L en ovejas, y 3.3 mmol/L en el ganado vacuno). Estas concentraciones normales más bajas parecen vincularse con el hecho de que los rumiantes fermentan casi todo el carbohidrato de la dieta hacia ácidos grasos de cadena corta, y éstos remplazan en su mayor parte a la glucosa como el principal combustible metabólico de los tejidos en el estado posprandial.

LA GLUCOSA EN SANGRE PROVIENE DE LA DIETA, LA GLUCONEOGÉNESIS Y LA GLUCOGENÓLISIS

Los carbohidratos de la dieta digeribles dan glucosa, galactosa y fructosa que se transportan hacia el hígado mediante la **vena porta hepática**. La galactosa y la fructosa se convierten con facilidad en glucosa en hígado (cap. 21).

La glucosa se forma a partir de dos grupos de compuestos que pasan por gluconeogénesis (figuras 17-4 y 20-1): 1) los que comprenden una conversión neta directa en glucosa, incluso casi todos los **aminoácidos** y el **propionato**, y 2) los que son los productos del metabolismo de la glucosa en los tejidos. De este modo, el **lactato**, formado por medio de glucólisis en el músculo estriado y los eritrocitos, se transporta hacia el hígado y los riñones, donde vuelve a formar glucosa, la cual de nuevo queda disponible mediante la circulación para oxidación en los tejidos. Este proceso se conoce como el **ciclo de Cori**, o el **ciclo del ácido láctico (figura 20-4)**.

En el estado de ayuno, hay considerable gasto de alanina desde el músculo estriado, que excede con mucho sus cifras en las

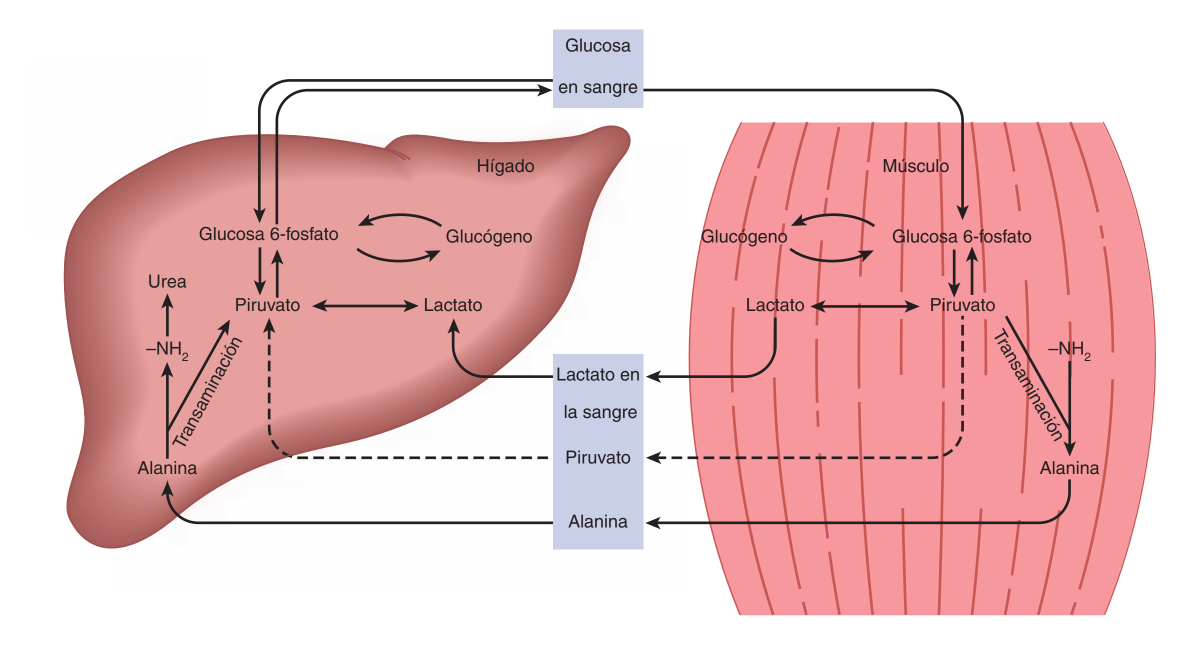


FIGURA 20–4 **Los ciclos del ácido láctico (ciclo de Cori) y de la glucosa-alanina.**

proteínas musculares que se están catabolizando. Se forma por transaminación de piruvato producto de la glucólisis de glucógeno muscular, y se exporta hacia el hígado, donde, luego de transaminación se regenera piruvato, es un sustrato para la gluconeogénesis. Así, este **ciclo de glucosa-alanina** (figura 20-4) proporciona una manera indirecta de emplear el glucógeno muscular para mantener la glucosa sanguínea en el estado de ayuno. El ATP requerido para la síntesis hepática de glucosa a partir del piruvato se deriva de la oxidación de ácidos grasos.

También se forma glucosa a partir del glucógeno hepático mediante glucogenólisis (cap. 19).

Mecanismos metabólicos y hormonales regulan la concentración de glucosa en sangre

El mantenimiento de concentraciones estables de glucosa en sangre es uno de los mecanismos homeostáticos regulados de manera más fina, que incluye el hígado, tejidos extrahepáticos y varias hormonas. Las células hepáticas son libremente permeables a la glucosa (por medio del transportador GLUT 2), mientras que las células de los tejidos extrahepáticos (excepto los islotes β pancreáticos) son relativamente impermeables, y sus transportadores de glucosa están regulados por insulina. Como resultado, la captación desde el torrente sanguíneo es el paso limitante en la utilización de glucosa en tejidos extrahepáticos. El **cuadro 20-2** muestra la función de diversas proteínas transportadoras de glucosa que se encuentran en membranas celulares.

La glucocinasa tiene importancia en la regulación de la glucosa en sangre después de una comida

La hexocinasa tiene una K_m baja para la glucosa, y en el hígado está saturada y actuando a un índice constante en todas las condiciones normales. La glucocinasa tiene una K_m mucho más alta (menor afinidad) para la glucosa, de modo que su actividad aumenta con los incrementos de la concentración de glucosa en la vena porta hepática (**figura 20-5**). Promueve la captación hepática de grandes cantidades de glucosa luego de una comida de carbohidratos. No se encuentra en el hígado de rumiantes, en los cuales entra poca glucosa a la circulación porta desde los intestinos.

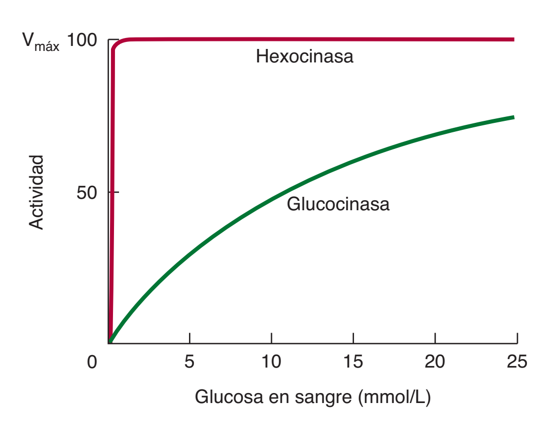


FIGURA 20–5 Variación de la actividad fosforilante de glucosa de la hexocinasa y la glucocinasa con el aumento de la concentración de glucosa en la sangre. La K_m para la glucosa de la hexocinasa es de 0.05 mmol/L, y de la glucocinasa, de 10 mmol/L.

A concentraciones normales de glucosa en sangre sistémica (4.5 a 5.5 mmol/L), el hígado es un productor neto de glucosa. Empero, conforme aumentan las cifras de esta última, el gasto de glucosa cesa y hay una captación neta.

La insulina desempeña una función fundamental en la regulación de la glucosa en sangre

Además de los efectos directos de la hiperglucemia en el aumento de la captación de glucosa hacia el hígado, la hormona insulina desempeña una función fundamental en la regulación de la glucosa en sangre. Se produce en las células β de los islotes de Langerhans en el páncreas en respuesta a hiperglucemia. Las células β de los islotes son libremente permeables a la glucosa mediante el transportador GLUT 2, y la glucosa es fosforilada por la glucocinasa. En consecuencia, el aumento de la glucosa en la sangre incrementa el flujo metabólico por glucólisis, el ciclo del ácido cítrico, y la generación de ATP. El aumento de [ATP] inhibe los canales de K^+ sensibles a ATP, lo que causa despolarización de la membrana celular; ello incrementa el flujo de entrada de Ca^{2+} por medio de canales del Ca^{2+} sensibles a voltaje, lo que es-

CUADRO 20–2 Principales transportadores de glucosa

	Localización en los tejidos	Funciones
Transportadores bidireccionales facilitadores		
GLUT 1	Cerebro, riñones, colon, placenta, eritrocitos	Captación de glucosa
GLUT 2	Hígado, células β pancreáticas, intestino delgado, riñones	Captación o liberación rápida de glucosa
GLUT 3	Cerebro, riñones, placenta	Captación de glucosa
GLUT 4	Músculos cardiaco y estriado, tejido adiposo	Captación de glucosa estimulada por insulina
GLUT 5	Intestino delgado	Absorción de glucosa
Transportador unidireccional dependiente de sodio		
SGLT 1	Intestino delgado y riñones	Captación activa de glucosa contra un gradiente de concentración

timula la exocitosis de insulina. De esta manera, la concentración de insulina en sangre corre a la par con la de la glucosa sanguínea. Otras sustancias que suscitan liberación de insulina desde el páncreas son aminoácidos, ácidos grasos libres, cuerpos cetónicos, glucagón, secretina y los fármacos con sulfonilurea tolbutamida y gliburida. Estos medicamentos se usan para estimular la secreción de insulina en la diabetes tipo 2 (diabetes mellitus no insulinodependiente, DMNID) al inhibir los canales de K^+ sensibles a ATP. La epinefrina y la norepinefrina bloquean la liberación de insulina. La insulina produce decremento inmediato de la glucosa en sangre al incrementar el transporte de glucosa hacia el tejido adiposo y el músculo por medio de reclutamiento de transportadores de glucosa (GLUT 4) desde el interior de la célula hacia la membrana plasmática. Si bien no afecta la captación de glucosa hacia el hígado de modo directo, la insulina aumenta la captación a largo plazo como resultado de sus acciones sobre las enzimas que controlan la glucólisis, la glucogénesis y la gluconeogénesis (cap. 19 y cuadro 20-1).

El glucagón se opone a las acciones de la insulina

El glucagón es la hormona producida por las células α de los islotes pancreáticos; su secreción es estimulada por la hipoglucemia. En el hígado estimula la glucogenólisis al activar la fosforilasa. Al contrario de la epinefrina, el glucagón carece de efecto sobre la fosforilasa muscular. El glucagón también aumenta la gluconeogénesis a partir de aminoácidos y lactato. En todas estas acciones, el glucagón actúa por medio de generación de cAMP (cuadro 20-1). Tanto la glucogenólisis como la gluconeogénesis hepáticas contribuyen al **efecto hiperglucemiante** del glucagón, cuyas acciones se oponen a las de la insulina. La mayor parte del glucagón (y de la insulina) endógeno se elimina de la circulación mediante el hígado (**cuadro 20-3**).

Otras hormonas afectan la glucosa en sangre

El lóbulo **anterior de la hipófisis** secreta hormonas que tienden a aumentar la glucosa en la sangre y, por ende, antagonizan la acción de la insulina. Son la hormona de crecimiento, la hormona adrenocorticotrópica (ACTH; corticotropina) y quizá otras hormonas "diabetogénicas". La hipoglucemia estimula la secreción de hormona de crecimiento; esta última aminora la captación de glucosa en el músculo. Parte de este efecto puede ser indirecto, porque estimula la movilización de ácidos grasos libres desde el tejido adiposo, que por sí mismos inhiben la utilización de glucosa. Los **glucocorticoides** (11-oxiesteroides) se secretan en la corteza suprarrenal y también son sintetizados de una manera no regulada en el tejido adiposo. Su acción incrementa la gluconeogénesis como resultado de aumento del catabolismo hepático de aminoácidos, debido a la inducción de aminotransferasas (y otras enzimas como la triptófano dioxigenasa) y enzimas clave de la gluconeogénesis. Además, los glucocorticoides inhiben la utilización de glucosa en tejidos extrahepáticos. En todas estas acciones, los glucocorticoides actúan de un modo antagonista a la insulina. Varias **citocinas** secretadas por macrófagos que infiltran el tejido adiposo también tienen acciones antagonistas de la insulina; junto con los glucocorticoides secretados por el tejido adiposo, esto explica la resistencia a la insulina que suele observarse en personas obesas.

La **epinefrina** es secretada por la médula suprarrenal como resultado de estímulos estresantes (temor, emoción, hemorragia, hipoxia, hipoglucemia, etc.) y lleva a glucogenólisis en el hígado y el músculo debido a estimulación de la fosforilasa por medio de generación de cAMP. En el músculo, la glucogenólisis produce incremento de la glucólisis, mientras que en el hígado ocasiona la liberación de glucosa hacia el torrente sanguíneo.

CUADRO 20–3 **Respuestas del tejido a la insulina y el glucagón**

	Hígado	Tejido adiposo	Músculo
Aumentado por insulina	Síntesis de ácidos grasos Síntesis de glucógeno Síntesis de proteína	Captación de glucosa Síntesis de ácidos grasos	Captación de glucosa Síntesis de glucógeno Síntesis de proteína
Disminuido por insulina	Cetogénesis Gluconeogénesis	Lipólisis	
Aumentado por glucagón	Glucogenólisis Gluconeogénesis Cetogénesis	Lipólisis	

ASPECTOS CLÍNICOS ADICIONALES

Cuando se supera el umbral renal para la glucosa se produce glucosuria

Cuando la glucosa en sangre aumenta hasta cifras relativamente altas, los riñones también ejercen un efecto regulador. Los glomérulos filtran de manera continua la glucosa, pero en circunstancias normales se resorbe por completo en los túbulos renales mediante transporte activo. La capacidad del sistema tubular para resorber glucosa está limitada a un índice de alrededor de 2 mmol/min, y en la hiperglucemia (como ocurre en la diabetes mellitus mal controlada), el filtrado glomerular puede contener más glucosa que la que es posible resorber, lo que da por resultado **glucosuria**. Esta última sobreviene cuando la concentración de glucosa en sangre venosa excede alrededor de 10 mmol/L; esto se llama **umbral renal** para la glucosa.

La hipoglucemia puede aparecer durante el embarazo y en el recién nacido

Durante la gestación, el consumo de glucosa por el feto aumenta, y hay riesgo de hipoglucemia materna y quizá fetal, en particular si hay intervalos prolongados entre las comidas o por la noche. Además, los lactantes prematuros y con peso bajo al nacer son más susceptibles a la hipoglucemia, porque tienen poco tejido adiposo para que proporcione ácidos grasos libres. Las enzimas de la gluconeogénesis pueden no ser por completo funcionales en este momento, y la gluconeogénesis de cualquier modo depende de un aporte de ácidos grasos libres para obtener energía. Hay poco glicerol, que por lo normal se liberaría a partir del tejido adiposo, disponible para gluconeogénesis.

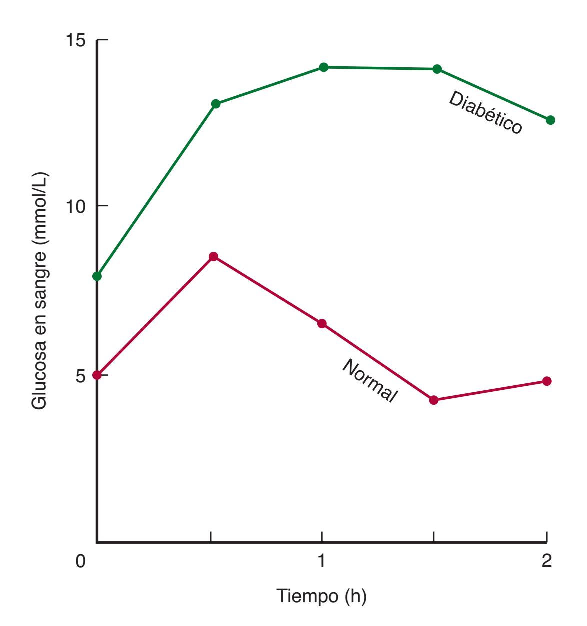


FIGURA 20–6 Prueba de tolerancia a la glucosa. Curvas de glucosa en sangre de una persona normal y de una diabética después de la administración por vía oral de 1 g de glucosa/kilogramo de peso corporal. Note la concentración inicial elevada en el diabético en ayuno. Un criterio de normalidad es el regreso de la curva al valor inicial en el transcurso de 2 h.

Al medir la tolerancia a la glucosa es posible determinar la capacidad del cuerpo para utilizarla

La tolerancia a la glucosa es la capacidad para regular su concentración en sangre después de la administración de una dosis de prueba de glucosa (por lo general 1 g/kg de peso corporal) (**figura 20-6**). La **diabetes mellitus** (diabetes mellitus tipo 1 o insulinodependiente; IDDM) se caracteriza por disminución de la tolerancia a la glucosa a consecuencia de decremento de la secreción de insulina por destrucción progresiva de células β de los islotes pancreáticos. Asimismo, la tolerancia a la glucosa se ve afectada en la diabetes mellitus tipo 2 (NIDDM) como resultado de sensibilidad alterada de los tejidos a la acción de la insulina. La resistencia a la insulina relacionada con obesidad (y en particular con la obesidad abdominal) que conduce a la aparición de hiperlipidemia, y luego a aterosclerosis y cardiopatía coronaria, así como a diabetes manifiesta, se conoce como el **síndrome metabólico**. La tolerancia a la glucosa también está alterada en situaciones en las cuales hay daño del hígado, en algunas infecciones, y en respuesta a algunos fármacos, así como en circunstancias que llevan a hiperactividad de la hipófisis o de la corteza suprarrenal debido a antagonismo de las hormonas secretadas por estas glándulas a la acción de la insulina.

La administración de insulina (como en el tratamiento de la diabetes mellitus) aminora la concentración sanguínea de glucosa, y aumenta su utilización y almacenamiento como glucógeno en el hígado y el músculo. Un exceso de insulina puede causar **hipoglucemia**, lo que origina convulsiones e incluso la muerte a menos que se administre glucosa con prontitud. En la insuficiencia hipofisaria o adrenocortical se observa incremento de la tolerancia a la glucosa, atribuible a una disminución del antagonismo para la insulina por las hormonas normalmente secretadas por estas glándulas.

El costo energético de la gluconeogénesis explica por qué las dietas con muy bajo contenido de carbohidratos promueven la pérdida de peso

Las dietas con muy bajo contenido de carbohidratos, que sólo proporcionan 20 g o menos de carbohidratos por día (en comparación con una ingesta deseable de 100 a 120 g/día), pero que permiten el consumo ilimitado de grasa y proteína, se han promovido como un régimen eficaz para la pérdida de peso, aun cuando esas dietas son contrarias a todas las recomendaciones respecto a una dieta prudente para que haya salud. Puesto que hay una demanda continua de glucosa, habrá una cantidad considerable de gluconeogénesis a partir de aminoácidos; el alto costo de ATP vinculado debe satisfacerse entonces por medio de oxidación de ácidos grasos.

RESUMEN

- La gluconeogénesis es el proceso de síntesis de glucosa o glucógeno a partir de precursores que no son carbohidratos. Tiene especial importancia cuando el carbohidrato no está disponible a partir de la dieta. Los sustratos importantes son aminoácidos, lactato, glicerol y propionato.
- La vía de la gluconeogénesis en hígado y riñones utiliza las reacciones en la glucólisis que son reversibles, más cuatro reacciones adicionales que evitan el paso por las reacciones no de equilibrio irreversibles.
- Dado que la glucólisis y la gluconeogénesis comparten la misma vía pero operan en direcciones opuestas, es necesario que sus actividades se regulen de manera recíproca.
- El hígado regula la glucosa en la sangre después de una comida, porque contiene la glucocinasa con K_m alta que promueve el aumento de la utilización hepática de glucosa.
- La insulina se secreta como una respuesta directa a la hiperglucemia; estimula al hígado para que almacene glucosa como glucógeno, y facilita la captación de glucosa hacia tejidos extrahepáticos.
- El glucagón se secreta como una respuesta a la hipoglucemia y activa tanto la glucogenólisis como la gluconeogénesis en el hígado, lo que causa liberación de glucosa hacia la sangre.

REFERENCIAS

Barthel A, Schmoll D: Novel concepts in insulin regulation of hepatic gluconeogenesis. Am J Physiol Endocrinol Metab 2003;285:E685.

Boden G: Gluconeogenesis and glycogenolysis in health and diabetes. J Investig Med 2004;52:375.

Dzugaj, A: Localization and regulation of muscle fructose 1,6-bisphosphatase, the key enzyme of glyconeogenesis. Adv Enzyme Regul 2006;46:51.

Jiang G, Zhang BB: Glucagon and regulation of glucose metabolism. Am J Physiol Endocrinol Metab 2003;284:E671.

Jitrapakdee S, Vidal-Puig A, Wallace JC: Anaplerotic roles of pyruvate carboxylase in mammalian tissues. Cell Mol Life Sci 2006;63:843.

Jitrapakdee S, St Maurice M, Rayment, et al: Structure, mechanism and regulation of pyruvate carboxylase. Biochem J 2008;413:369.

Klover PJ, Mooney RA: Hepatocytes: critical for glucose homeostasis. Int J Biochem Cell Biol 2004;36:753.

McGuinness OP: Defective glucose homeostasis during infection. Ann Rev Nutr 2005;25:9.
Mithiuex G, Andreelli F, Magnan C: Intestinal gluconeogenesis: key signal of central control of energy and glucose homeostasis. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2009;12:419.
Mlinar B, Marc J, Janez A, et al: Molecular mechanisms of insulin resistance and associated diseases. Clin Chim Acta 2007;375:20.
Nordlie RC, Foster JD, Lange AJ: Regulation of glucose production by the liver. Ann Rev Nutr 1999;19:379.
Pilkis SJ, Claus TH: Hepatic gluconeogenesis/glycolysis: regulation and structure/function relationships of substrate cycle enzymes. Ann Rev Nutr 1991;11:465.
Pilkis SJ, Granner DK: Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. Ann Rev Physiol 1992;54:885.
Postic C, Shiota M, Magnuson MA: Cell-specific roles of glucokinase in glucose homeostasis. Rec Prog Horm Res 2001;56:195.
Previs SF, Brunengraber DZ, Brunengraber H: Is there glucose production outside of the liver and kidney? Ann Rev Nutr 2009;29:43.
Quinn PG, Yeagley D: Insulin regulation of PEPCK gene expression: a model for rapid and reversible modulation. Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord 2005;5:423.
Reaven GM: The insulin resistance syndrome: definition and dietary approaches to treatment. Ann Rev Nutr 2005;25:391.
Roden M, Bernroider E: Hepatic glucose metabolism in humans—its role in health and disease. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2003;17:365.
Saggerson D: Malonyl-CoA, a key signaling molecule in mammalian cells. Ann Rev Nutr 2008;28:253.
Schuit FC, Huypens P, Heimberg H, Pipeleers DG: Glucose sensing in pancreatic beta-cells: a model for the study of other glucose-regulated cells in gut, pancreas, and hypothalamus. Diabetes 2001;50:1.
Suh SH, Paik IY, Jacobs K: Regulation of blood glucose homeostasis during prolonged exercise. Mol Cells 2007;23:272.
Wahren J, Ekberg K: Splanchnic regulation of glucose production. Ann Rev Nutr 2007;27:329.
Young, A: Inhibition of glucagon secretion. Adv Pharmacol 2005;52:151.

La vía de la pentosa fosfato y otras vías del metabolismo de hexosas

CAPÍTULO 21

David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir la vía de la pentosa fosfato y sus papeles como una fuente de NADPH, y en la síntesis de ribosa para la síntesis de nucleótido.
- Describir la vía del ácido urónico y su importancia para la síntesis de ácido glucurónico para reacciones de conjugación y (en animales para los cuales no es una vitamina) vitamina C.
- Describir las consecuencias de ingestiones grandes de fructosa, y explicarlas.
- Describir la síntesis de la galactosa y la importancia fisiológica de la misma.
- Explicar las consecuencias de defectos genéticos de deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (favismo), la vía del ácido urónico (pentosuria esencial) y del metabolismo de fructosa y galactosa.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La vía de la pentosa fosfato es una ruta alternativa para el metabolismo de la glucosa. No lleva a formación de ATP, pero tiene dos funciones importantes: 1) la formación de **NADPH** para la síntesis de ácidos grasos y esteroides, y mantener reducido el glutatión para la actividad antioxidante, y 2) la síntesis de **ribosa** para la formación de nucleótido y ácido nucleico. Glucosa, fructosa y galactosa son las principales hexosas que se absorben a partir del tubo digestivo, derivadas de la obtención dietética de almidón, sacarosa y lactosa, respectivamente. La fructosa y la galactosa pueden convertirse en glucosa, principalmente en el hígado.

La deficiencia genética de **glucosa 6-fosfato deshidrogenasa**, la primera enzima de la vía de la pentosa fosfato, es una causa importante de lisis aguda de eritrocitos, lo que origina **anemia hemolítica**. El ácido glucurónico se sintetiza a partir de la glucosa mediante la **vía del ácido urónico**, de importancia cuantitativa menor, pero muy importante para la conjugación y excreción de metabolitos y sustancias químicas extrañas (xenobióticos) como **glucurónidos**. Una deficiencia en la vía lleva a la enfermedad de **pentosuria esencial**. La falta de una enzima de la vía (gulonolactona oxidasa) en primates y en algunos otros animales explica por qué el **ácido ascórbico** (vitamina C) es un requerimiento de la dieta para seres humanos, mas no para casi todos los otros mamíferos. Las deficiencias de las enzimas del metabolismo de la fructosa y galactosa llevan a enfermedades metabólicas como **fructosuria esencial**, **intolerancia hereditaria a la fructosa** y **galactosemia**.

LA VÍA DE LA PENTOSA FOSFATO FORMA NADPH Y RIBOSA FOSFATO

La vía de la pentosa fosfato (derivación de hexosa monofosfato) es una vía más compleja que la glucólisis (**figura 21-1**). Tres moléculas de glucosa 6-fosfato dan lugar a tres moléculas de CO_2 y a tres azúcares de cinco carbonos, los cuales se reordenan para regenerar dos moléculas de glucosa 6-fosfato y una molécula del intermediario glucolítico, gliceraldehído 3-fosfato. Puesto que dos moléculas de gliceraldehído 3-fosfato pueden regenerar glucosa 6-fosfato, la vía puede explicar la oxidación completa de la glucosa.

LAS REACCIONES DE LA VÍA DE LA PENTOSA FOSFATO SUCEDEN EN EL CITOSOL

Al igual que la glucólisis, las enzimas de la vía de la pentosa fosfato son citosólicas. Al contrario de la glucólisis, la oxidación se logra por medio de deshidrogenación usando **NADP$^+$**, no **NAD$^+$**, como el aceptor de hidrógeno. La secuencia de reacciones de la vía puede dividirse en dos fases: una **fase irreversible oxidativa** y una **fase reversible no oxidativa**. En la primera fase, la glucosa 6-fosfato pasa por deshidrogenación y descarboxilación

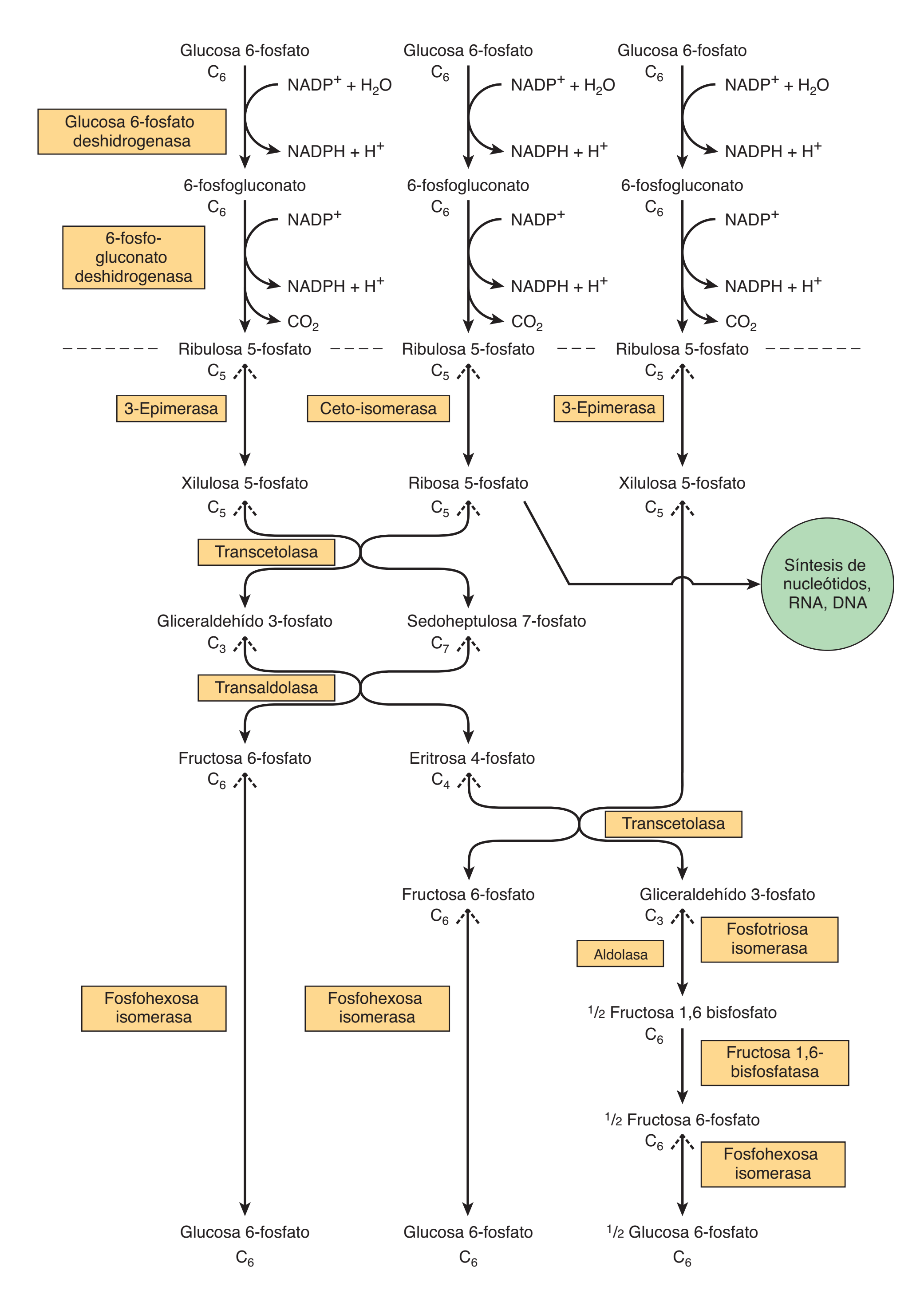


FIGURA 21–1 Diagrama de flujo de la vía de la pentosa fosfato y sus conexiones con la vía de la glucólisis. La vía completa, según se indica, consta de tres ciclos interconectados en los cuales la glucosa 6-fosfato es tanto sustrato como producto terminal. Las reacciones que están por arriba de la línea discontinua son irreversibles, mientras que todas las que están bajo esa línea son libremente reversibles excepto la catalizada por la fructosa 1,6-bisfosfatasa.

para dar una pentosa, la ribulosa 5-fosfato. En la segunda fase, la ribulosa 5-fosfato se convierte de regreso en glucosa 6-fosfato mediante una serie de reacciones que comprenden principalmente dos enzimas: **transcetolasa** y **transaldolasa** (figura 21-1).

La fase oxidativa genera NADPH

La deshidrogenación de la glucosa 6-fosfato hacia 6-fosfogluconato ocurre por medio de la formación de 6-fosfogluconolactona catalizada por la **glucosa 6-fosfato deshidrogenasa**, una enzima dependiente de NADP (**figuras 21-1** y **21-2**). La hidrólisis de

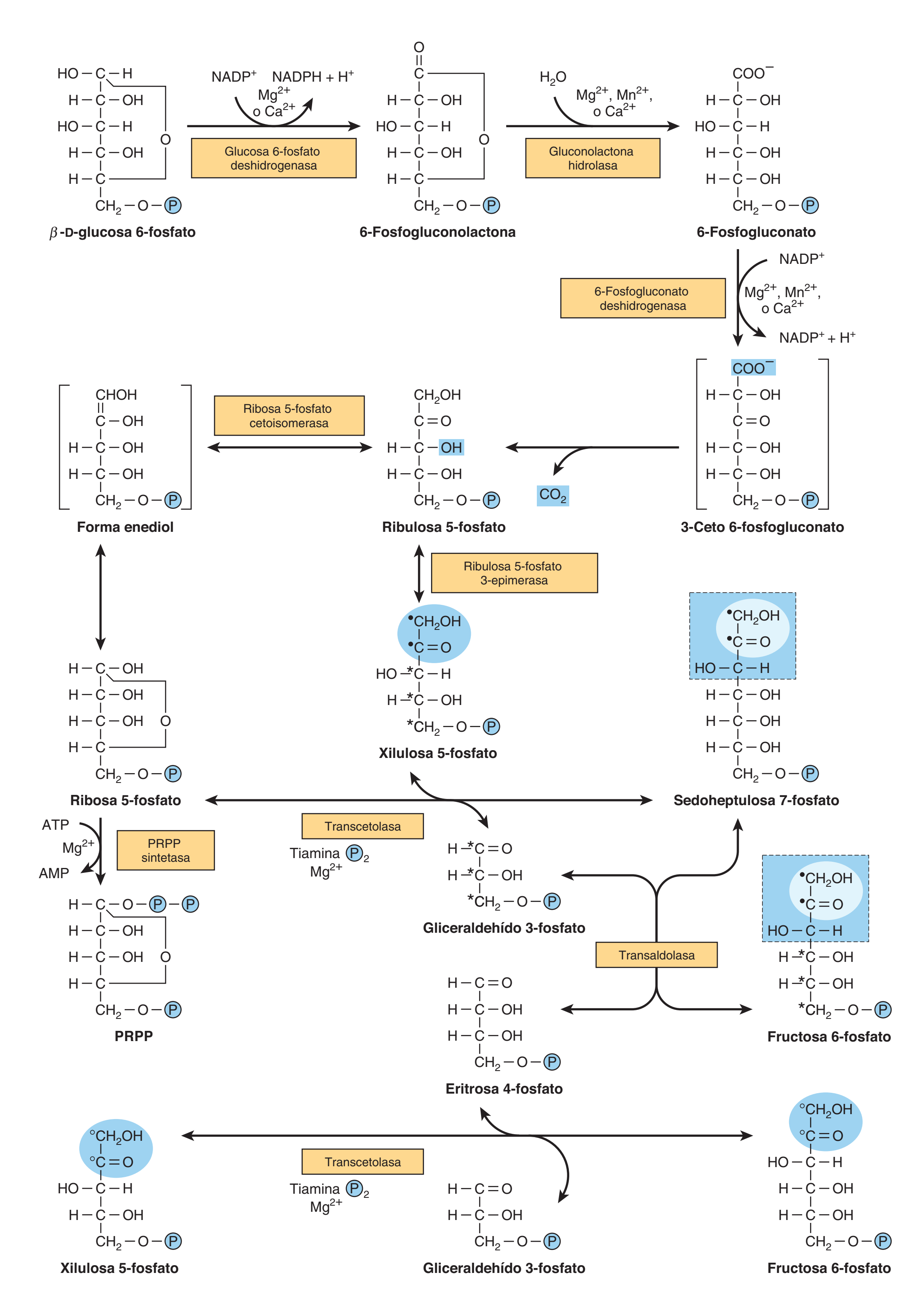


FIGURA 21–2 La vía de la pentosa fosfato. (P, — PO_3^{2-}; PRPP, 5-fosforribosil-1-pirofosfato.)

la 6-fosfogluconolactona se logra mediante la enzima **gluconolactona hidrolasa**. Un segundo paso oxidativo es catalizado por la **6-fosfogluconato deshidrogenasa**, que también necesita $NADP^+$ como aceptor de hidrógeno. A continuación hay descarboxilación, con la formación de la cetopentosa ribulosa 5-fosfato.

En el retículo endoplásmico, una isoenzima de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, la hexosa 6-fosfato deshidrogenasa, proporciona NADPH para reacciones de hidroxilación (oxidasa de función mixta), y para la 11-β-hidroxiesteroide deshidrogenasa-1. Esta enzima cataliza la reducción de cortisona (inactiva) hacia

cortisol (activo) en el hígado, el sistema nervioso y el tejido adiposo. Es la principal fuente de cortisol intracelular en estos tejidos, y puede ser importante en la obesidad y en el síndrome metabólico.

La fase no oxidativa genera precursores de la ribosa

La ribulosa 5-fosfato es el sustrato para dos enzimas. La **ribulosa 5-fosfato 3-epimerasa** altera la configuración alrededor del carbono 3, lo que forma el epímero xilulosa 5-fosfato, también una cetopentosa. La **ribosa 5-fosfato cetoisomerasa** convierte a la ribulosa 5-fosfato en la aldopentosa correspondiente, ribosa 5-fosfato, que se usa para la síntesis de nucleótido y ácido nucleico. La **transcetolasa** transfiere la unidad de dos carbonos que incluye los carbonos 1 y 2 de una cetosa hacia el carbono aldehído de un azúcar aldosa. Por consiguiente, afecta la conversión de un azúcar cetosa en una aldosa con dos carbonos menos y un azúcar aldosa en una cetosa con dos carbonos más. La reacción requiere Mg^{2+} y **difosfato de tiamina** (vitamina B_1) como coenzima. La medición de la transcetolasa de eritrocito, y su activación por el difosfato de tiamina, proporciona un índice del estado nutricional en cuanto a vitamina B_1 (cap. 44). Es probable que la porción de dos carbonos transferida sea glucolaldehído unido a difosfato de tiamina. De este modo, la transcetolasa cataliza la transferencia de la unidad de dos carbonos desde la xilulosa 5-fosfato hacia la ribosa 5-fosfato, lo que produce la cetosa de siete carbonos sedoheptulosa 7-fosfato, y la aldosa gliceraldehído 3-fosfato. Estos dos productos luego pasan por transaldolación. La **transaldolasa** cataliza la transferencia de una porción dihidroxiacetona de tres carbonos (carbonos uno a tres) desde la cetosa sedoheptulosa 7-fosfato hacia la aldosa gliceraldehído 3-fosfato para formar una cetosa fructosa 6-fosfato y la aldosa de cuatro carbonos eritrosa 4-fosfato. La transaldolasa no tiene cofactor, y la reacción procede mediante la formación intermedia de una base de Schiff de dihidroxiacetona al grupo ε-amino de un residuo lisina en la enzima. En una reacción adicional catalizada por **transcetolasa**, la xilulosa 5-fosfato sirve como un donador de glucolaldehído. En este caso la eritrosa 4-fosfato es el aceptor, y los productos de la reacción son fructosa 6-fosfato y gliceraldehído 3-fosfato.

A fin de oxidar la glucosa por completo a CO_2 por medio de la vía de la pentosa fosfato, debe haber enzimas presentes en el tejido para convertir el gliceraldehído 3-fosfato en glucosa 6-fosfato. Esto comprende reversión de la glucólisis y la enzima gluconeogénica **fructosa 1,6-bisfosfatasa**. En los tejidos que carecen de esta enzima, la gliceraldehído 3-fosfato sigue la vía normal de la glucólisis hacia piruvato.

Las dos principales vías para el catabolismo de la glucosa tienen poco en común

Si bien la glucosa 6-fosfato es común a ambas vías, la vía de la pentosa fosfato difiere de manera notoria de la glucólisis. En la oxidación se utiliza NADP en lugar de NAD, y el CO_2, que no se produce en la glucólisis, es un producto característico. En la vía de la pentosa fosfato no se genera ATP, mientras que es un producto importante de la glucólisis.

Sin embargo, las dos vías están conectadas. La xilulosa 5-fosfato activa la proteína fosfatasa que desfosforila la enzima bifuncional 6-fosfofructo-2-cinasa/fructosa 2,6-bisfosfatasa (cap. 18). Esto activa la cinasa y desactiva la fosfatasa, lo que lleva a formación aumentada de fructosa 2,6-bisfosfato, actividad aumentada de fosfofructocinasa-1 y, por ende, flujo glucolítico aumentado. La xilulosa 5-fosfato también activa la proteína fosfatasa que inicia la translocación nuclear y la unión a DNA de la proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidrato, lo que lleva a la síntesis aumentada de ácidos grasos (cap. 23) en respuesta a una dieta alta en carbohidrato.

Los equivalentes reductores se generan en los tejidos especializados en síntesis reductivas

La vía de la pentosa fosfato es activa en el hígado, el tejido adiposo, la corteza suprarrenal, tiroides, eritrocitos, testículos y glándula mamaria en lactación. Su actividad es baja en la glándula mamaria que no está en lactación y en el músculo estriado. Los tejidos en los cuales la vía es activa usan NADPH en síntesis reductivas, por ejemplo, de ácidos grasos, esteroides, aminoácidos mediante la glutamato deshidrogenasa y glutatión reducido. En el estado posprandial, cuando se incrementa la lipogénesis, la insulina también puede inducir la síntesis de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa y 6-fosfogluconato deshidrogenasa.

La ribosa puede sintetizarse en casi todos los tejidos

En el torrente sanguíneo circula poca o ninguna ribosa, de modo que los tejidos deben sintetizar la que necesitan para síntesis de nucleótido y ácido nucleico, usando la vía de la pentosa fosfato (figura 21-2). No es necesario tener una vía de la pentosa fosfato que funcione por completo para que un tejido sintetice ribosa 5-fosfato. El músculo sólo tiene actividad baja de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa y 6-fosfogluconato deshidrogenasa pero, al igual que casi todos los otros tejidos, tiene la capacidad para sintetizar ribosa 5-fosfato por medio de reversión de la fase no oxidativa de la vía de la pentosa fosfato utilizando fructosa 6-fosfato.

LA VÍA DE LA PENTOSA FOSFATO Y LA GLUTATIÓN PEROXIDASA PROTEGEN A LOS ERITROCITOS CONTRA HEMÓLISIS

En los eritrocitos la vía de la pentosa fosfato es la única fuente de NADPH para la reducción de glutatión oxidado, catalizada por la **glutatión reductasa**, una flavoproteína que contiene FAD. El glutatión reducido elimina H_2O_2 en una reacción catalizada por

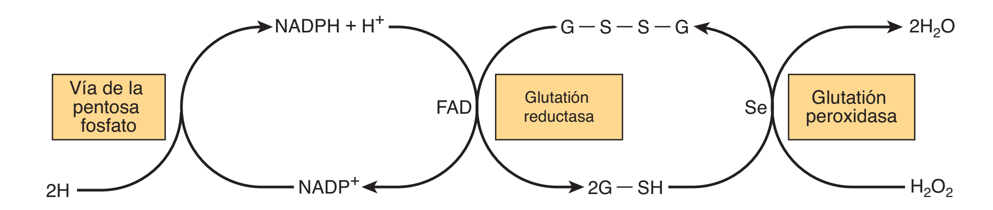


FIGURA 21–3 Función de la vía de la pentosa fosfato en la reacción de glutatión peroxidasa de eritrocitos. (G-S-S-G, glutatión oxidado; G-SH, glutatión reducido; Se, enzima que contiene selenio.)

la **glutatión peroxidasa**, enzima que contiene el análogo **selenio** de cisteína (selenocisteína) en el sitio activo (**figura 21-3**). La reacción es importante, porque la acumulación de H_2O_2 puede aminorar el lapso de vida del eritrocito al causar daño oxidativo de la membrana celular, lo que conduce a hemólisis. En otros tejidos, el NADPH también puede ser generado por la reacción catalizada por la enzima málica.

EL GLUCURONATO, UN PRECURSOR DE PROTEOGLUCANOS Y DE GLUCURÓNIDOS CONJUGADOS, ES UN PRODUCTO DE LA VÍA DEL ÁCIDO URÓNICO

En el hígado, la **vía del ácido urónico** cataliza la conversión de glucosa en ácido glucurónico, ácido ascórbico (salvo en seres humanos y otras especies para las cuales el ascorbato es una vitamina), y pentosas (**figura 21-4**). Asimismo, es una vía oxidativa alternativa para la glucosa que, al igual que la vía de la pentosa fosfato, no lleva a la formación de ATP. La glucosa 6-fosfato se isomeriza hacia glucosa 1-fosfato, que entonces reacciona con uridina trifosfato (UTP) para formar uridina difosfato glucosa (UDPGlc) en una reacción catalizada por la **UDPGlc pirofosforilasa**, como sucede en la síntesis de glucógeno (cap. 19). La UDPGlc se oxida en el carbono 6 por la **UDPGlc deshidrogenasa** dependiente de NAD, en una reacción de dos pasos para dar UDP-glucuronato.

El UDP glucuronato es la fuente de glucuronato para reacciones que incluyen su incorporación hacia proteoglucanos o para reacción con sustratos como hormonas esteroides, bilirrubina y diversos medicamentos que se excretan en la orina o la bilis como conjugados glucurónidos (figura 31-13).

El glucuronato se reduce hacia L-gulonato, el precursor directo del **ascorbato** en los animales que tienen la capacidad para sintetizar esta vitamina, en una reacción dependiente de NADPH. Los seres humanos y otros primates, así como los conejillos de Indias (cobayos), murciélagos y algunas aves y peces, no pueden sintetizar ácido ascórbico debido a la falta de **L-gulonolactona oxidasa**. El L-gulonato se oxida hacia 3-ceto-L-gulonato, que después es descarboxilado hacia L-xilulosa; esta última se convierte en el isómero D por medio de una reducción dependiente del NADPH hacia xilitol, seguida por oxidación en una reacción dependiente de NAD hacia D-xilulosa. Luego de conversión en D-xilulosa 5-fosfato, se metaboliza por medio de la vía de la pentosa fosfato.

LA INGESTIÓN DE GRANDES CANTIDADES DE FRUCTOSA TIENE PROFUNDAS CONSECUENCIAS METABÓLICAS

Las dietas con alto contenido de sacarosa o con jarabes con alto contenido de fructosa usados en alimentos y bebidas manufacturados llevan a la entrada de grandes cantidades de fructosa (y glucosa) a la vena porta hepática.

La fructosa pasa por glucólisis más rápida en el hígado que la glucosa, porque sortea el paso regulador catalizado por la fosfofructocinasa (**figura 21-5**); lo cual permite que la fructosa inunde las vías en el hígado, lo que lleva a aumento de la síntesis y la esterificación de ácidos grasos, y de la secreción de VLDL, lo que puede incrementar las cifras séricas de triacilgliceroles y por último de colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL). Una cinasa específica, la **fructocinasa**, cataliza la fosforilación de fructosa hacia fructosa 1-fosfato en hígado, riñones e intestino. Esta enzima no actúa sobre la glucosa y, al contrario de la glucocinasa, su actividad no es afectada por el ayuno ni por la insulina, lo cual puede explicar por qué en diabéticos la fructosa se elimina de la sangre a un índice normal. La fructosa 1-fosfato se divide hacia D-gliceraldehído y dihidroxiacetona fosfato mediante la **aldolasa B**, una enzima que se encuentra en el hígado, que también funciona en la glucólisis en el hígado al dividir a la fructosa 1,6-bisfosfato. El D-gliceraldehído entra a la glucólisis por medio de fosforilación hacia gliceraldehído 3-fosfato catalizada por la **triocinasa**. Los dos triosa fosfatos, dihidroxiacetona fosfato y gliceraldehído 3-fosfato, pueden degradarse mediante glucólisis o ser sustratos para la aldolasa y, por tanto, para la gluconeogénesis, que es el destino de gran parte de la fructosa que se metaboliza en el hígado.

En tejidos extrahepáticos, la hexocinasa cataliza la fosforilación de casi todos los azúcares hexosa, incluso la fructosa, pero la glucosa inhibe la fosforilación de la fructosa, porque es un mejor sustrato para la hexocinasa. Aun así, algo de fructosa puede metabolizarse en el tejido adiposo y el músculo. La fructosa se encuentra en el plasma seminal y en la circulación del feto de ungulados y ballenas. La aldosa reductasa se encuentra en la placenta de ovejas y se encarga de la secreción de sorbitol hacia la sangre fetal.

La conversión de sorbitol en fructosa depende de la presencia de sorbitol deshidrogenasa en el hígado, incluso el hígado del feto. Esta vía también es la causa de la presencia de fructosa en el líquido seminal.

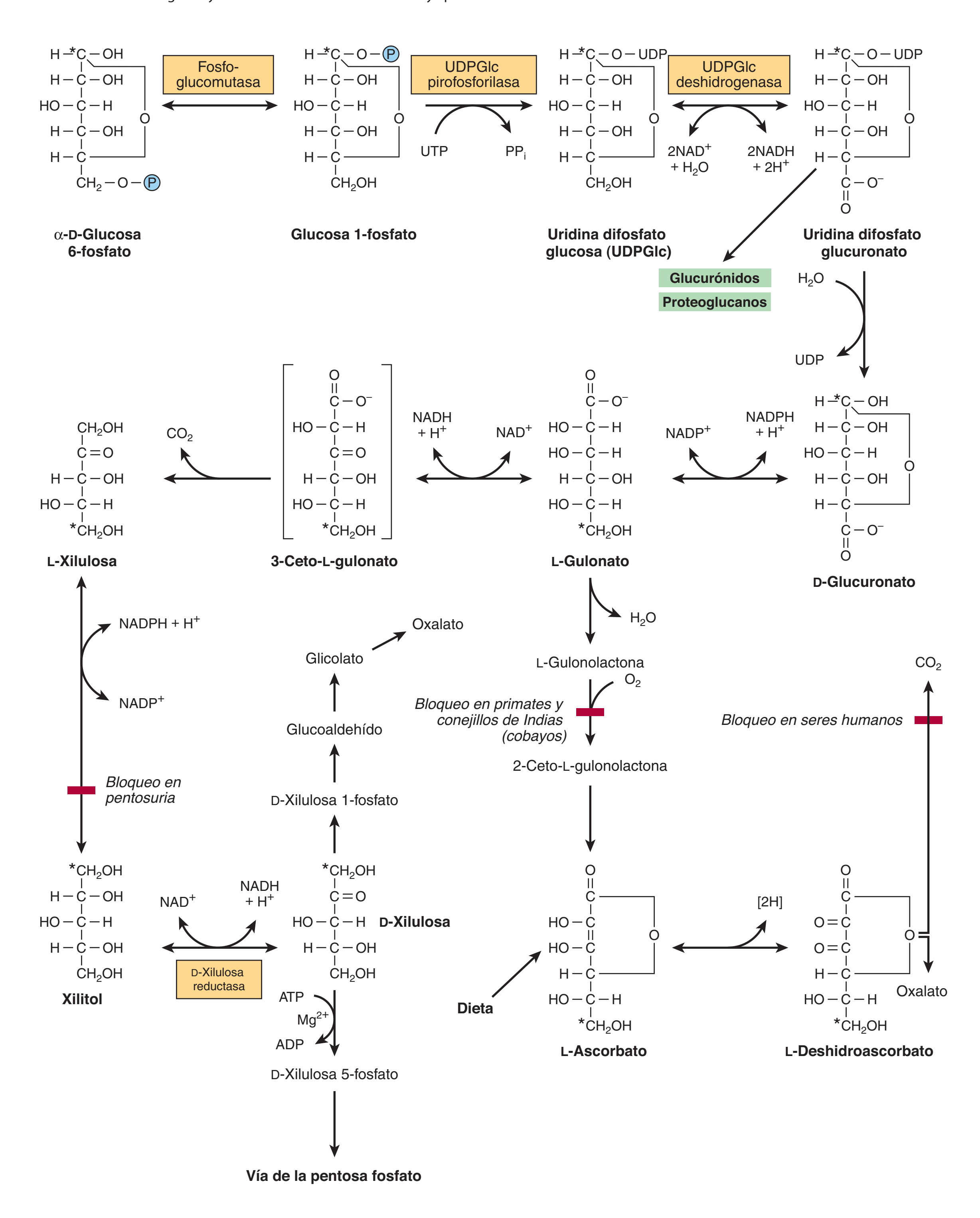


FIGURA 21–4 **Vía del ácido urónico.** (*Indica el destino del carbono 1 de la glucosa; Ⓟ, —PO_3^{2-}.)

LA GALACTOSA SE REQUIERE PARA LA SÍNTESIS DE LACTOSA, GLUCOLÍPIDOS, PROTEOGLUCANOS Y GLUCOPROTEÍNAS

La galactosa se deriva de la hidrólisis intestinal del disacárido **lactosa**, el azúcar de la leche y en el hígado se convierte con facilidad en glucosa. La **galactocinasa** cataliza la fosforilación de galactosa, usando ATP como donador de fosfato (**figura 21-6**). La galactosa 1-fosfato reacciona con la uridina difosfato glucosa (UDPGlc) para formar uridina difosfato galactosa (UDPGal) y glucosa 1-fosfato, en una reacción catalizada por la **galactosa 1-fosfato uridil transferasa**. La conversión de UDPGal en UDPGlc es catalizada por la **UDPGal 4-epimerasa**. La reacción comprende oxidación, y después reducción, en el carbono 4, con NAD+ como coenzima. La UDPGlc luego se incorpora hacia el glucógeno (cap. 19).

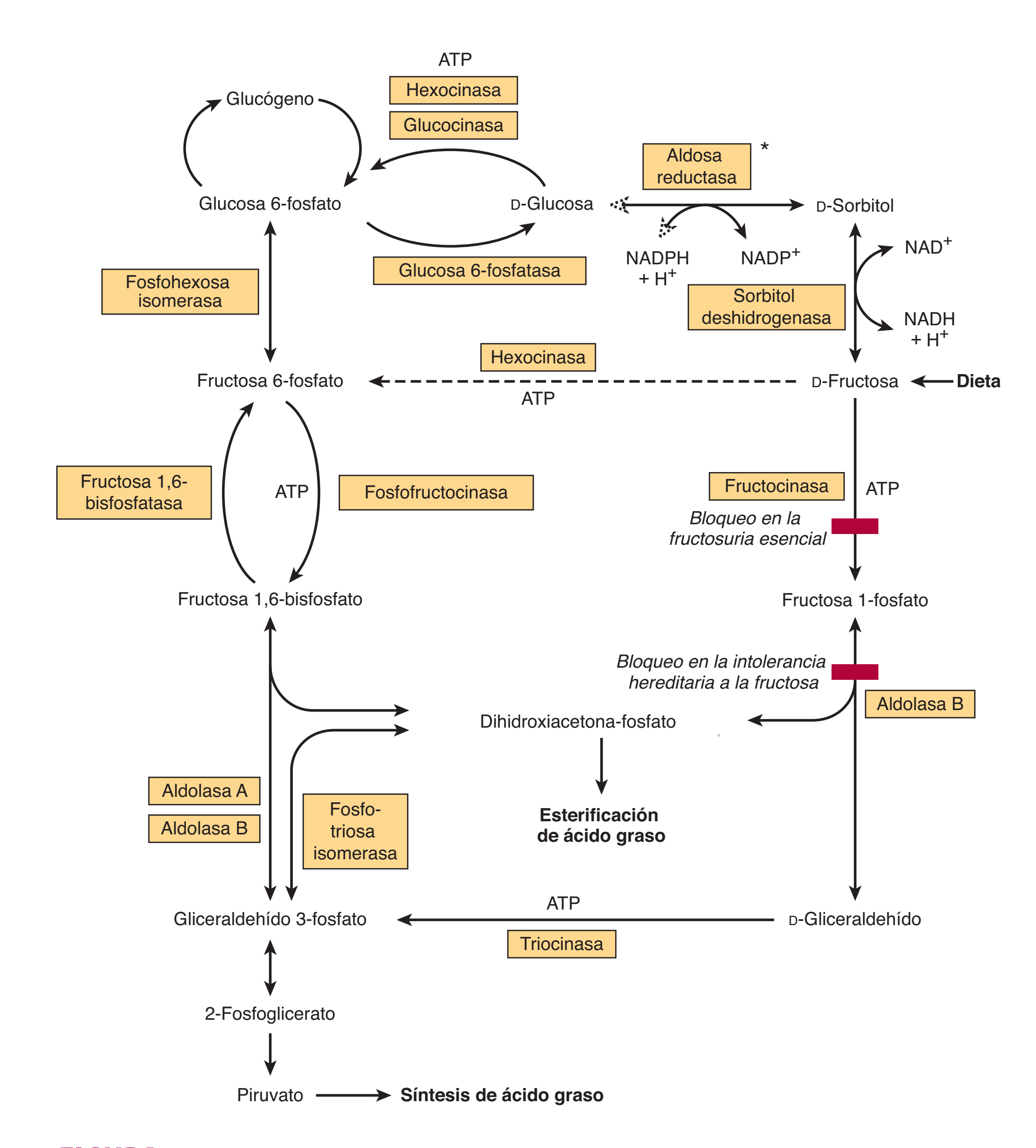


FIGURA 21–5 Metabolismo de la fructosa. La aldolasa A se encuentra en todos los tejidos, mientras que la aldolasa B es la forma predominante en el hígado. (*No se encuentra en el hígado.)

La reacción de la epimerasa es libremente reversible, de modo que la glucosa puede convertirse en galactosa, y la galactosa no es un componente esencial de la dieta. La galactosa se requiere en el organismo no sólo para la formación de lactosa durante la lactación, sino también como un constituyente de glucolípidos (cerebrósidos), proteoglucanos y glucoproteínas. En la síntesis de lactosa en la glándula mamaria, la UDPGal se condensa con glucosa para dar lactosa, catalizada por la **lactosa sintasa** (figura 21-6).

La glucosa es el precursor de azúcares amino (hexosaminas)

Los azúcares amino son componentes de importancia de las **glucoproteínas** (cap. 47), y de ciertos **glucoesfingolípidos** (p. ej., gangliósidos; cap. 15), y de **glucosaminoglucanos** (cap. 48). Los principales azúcares amino son las hexosaminas **glucosamina**, **galactosamina** y **manosamina**, y el compuesto de nueve carbonos **ácido siálico**. El principal ácido siálico que se encuentra en tejidos humanos es el ácido *N*-acetilneuramínico (NeuAc). En la **figura 21-7** se resumen las interrelaciones metabólicas entre los azúcares amino.

ASPECTOS CLÍNICOS

El deterioro de la vía de la pentosa fosfato conduce a hemólisis

Los defectos genéticos de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, con deterioro consiguiente de la generación de NADPH, son frecuentes en poblaciones de origen mediterráneo y afrocaribeño. El gen está en el cromosoma X, de modo que los afectados son principalmente varones. Alrededor de 400 millones de

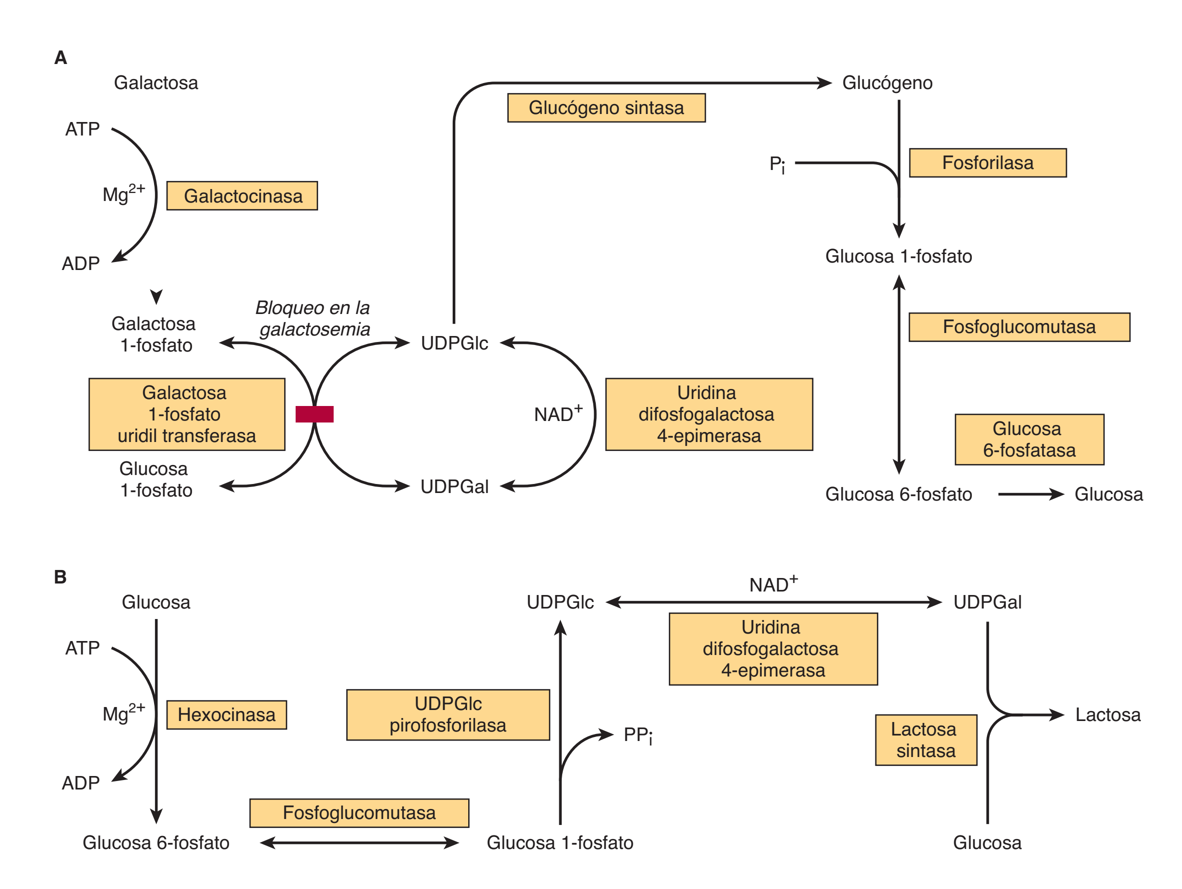


FIGURA 21–6 **Vía de la conversión de A) galactosa en glucosa en el hígado y B) glucosa en lactosa en la glándula mamaria en lactación.**

personas porta un gen mutado para la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, lo que hace que sea el defecto genético más frecuente, pero la mayoría es asintomática. En algunas poblaciones, la deficiencia de glucosa 6-fosfatasa es suficientemente común como para que se considere un polimorfismo genético. La distribución de genes mutantes corre parejas con la del paludismo, lo que sugiere que ser heterocigoto confiere resistencia contra el paludismo. El defecto se manifiesta como lisis de eritrocitos (**anemia hemolítica**) cuando los pacientes susceptibles quedan sujetos a estrés oxidativo (cap. 52) por infección, fármacos como el antipalúdico primaquina, y sulfonamidas, o cuando han comido habas (*Vicia fava*, de ahí el nombre de la enfermedad, **favismo**).

Hay dos variantes principales del favismo; en la afrocaribeña la enzima es inestable, de manera que aun cuando las actividades promedio de los eritrocitos son bajas, el estrés oxidativo sólo afecta a los eritrocitos más viejos, y las crisis hemolíticas tienden a ser autolimitadas; en contraste, en la variante del Mediterráneo la enzima es estable, pero tiene actividad baja en todos los eritrocitos. Las crisis hemolíticas en estas personas son más graves y pueden ser mortales. La glutatión peroxidasa depende de un aporte de NADPH, que en los eritrocitos sólo puede formarse por medio de la vía de la pentosa fosfato. Reduce peróxidos orgánicos y H_2O_2, como parte de la defensa del cuerpo contra peroxidación lípida (figura 15-21). La medición de la **glutatión reductasa** eritrocítica, y su activación por FAD se usa para evaluar el estado nutricional en cuanto a **vitamina B_2** (cap. 44).

La alteración de la vía del ácido urónico se produce por defectos enzimáticos y por algunos medicamentos

En la rara enfermedad hereditaria benigna **pentosuria esencial**, aparecen cantidades considerables de **L-xilulosa** en la orina, debido a falta de la enzima necesaria para reducir L-xilulosa hacia xilitol. Aunque la pentosuria es benigna y no genera consecuencias clínicas, la xilulosa es un azúcar reductor y puede dar resultados positivos falsos cuando se mide la glucosa urinaria usando reactivos de cobre alcalinos. Diversos fármacos aumentan el índice al cual la glucosa entra a la vía del ácido urónico. Por ejemplo, la administración de barbital o clorobutanol a ratas suscita un incremento importante de la conversión de glucosa en glucuronato, L-gulonato y ascorbato. La aminopirina y la antipirina aumentan la excreción de L-xilulosa en individuos pentosúricos. La pentosuria también tiene lugar después del consumo de grandes cantidades de frutas (como peras) que son ricas fuentes de pentosas (**pentosuria alimentaria**).

Cargar el hígado con fructosa puede potenciar la hipertriacilglicerolemia, hipercolesterolemia e hiperuricemia

En el hígado, la fructosa incrementa la síntesis de ácidos grasos y triacilglicerol, y la secreción de VLDL, lo que da pie a

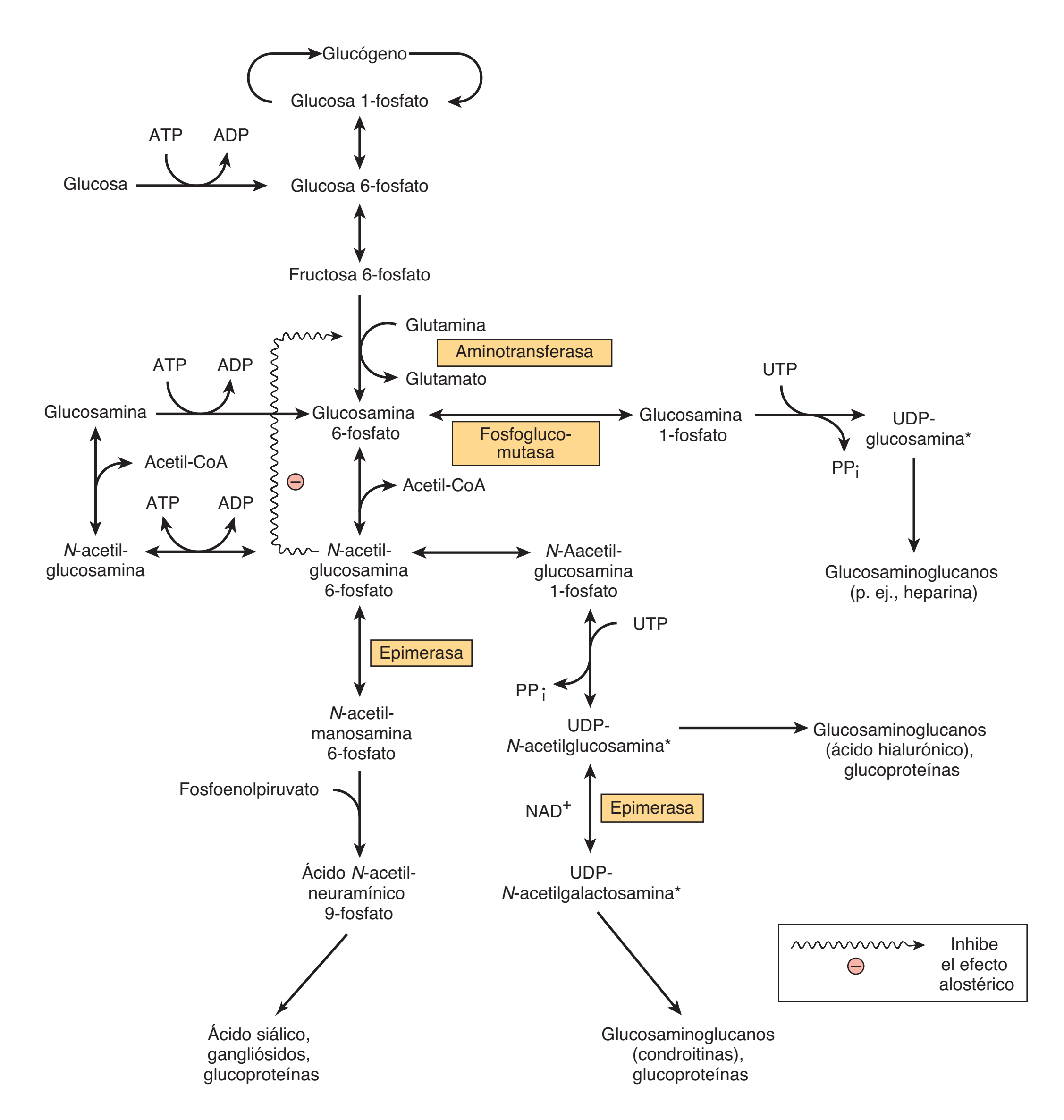


FIGURA 21–7 Resumen de las interrelaciones en el metabolismo de azúcares amino. (*Análogo a UDPGlc.) Otros nucleótidos purina o pirimidina pueden estar enlazados de modo similar a azúcares o azúcares amino. Los ejemplos son difosfato de timidina (TDP)-glucosamina, y TDP-*N*-acetilglucosamina.

hipertriacilglicerolemia —e incremento del colesterol LDL—, que en potencia es aterogénico (cap. 26). Esto se debe a que la fructosa entra a la glucólisis por medio de la fructocinasa, y la fructosa 1-fosfato resultante sortea el paso regulador catalizado por la fosfofructocinasa (cap. 18). Más aún, la carga aguda del hígado con fructosa, como llega a suceder con la administración por vía intravenosa lenta o luego de ingestiones muy altas de fructosa, causa secuestro de fosfato inorgánico en la fructosa 1-fosfato, y síntesis disminuida de ATP. Como resultado, hay menos inhibición de la síntesis de purina *de novo* por el ATP, y la formación de ácido úrico está aumentada, lo que origina hiperuricemia, que es la causa de la gota (cap. 33). Dado que la fructosa se absorbe a partir del intestino delgado mediante difusión mediada por transportador (pasiva), las dosis altas por vía oral pueden llevar a diarrea osmótica.

Los defectos del metabolismo de la fructosa suscitan enfermedad

Una falta de fructocinasa hepática genera **fructosuria esencial**, una enfermedad benigna y asintomática. La falta de aldolasa B, que divide a la fructosa 1-fosfato, lleva a **intolerancia hereditaria a la fructosa**, caracterizada por hipoglucemia profunda y vómito después del consumo de fructosa (o de sacarosa, que da fructosa en el momento de la digestión) (figura 21-5). Las dietas con bajo contenido de fructosa, sorbitol y sacarosa son beneficiosas para ambas enfermedades. Una consecuencia de la intolerancia hereditaria a la fructosa, y de una enfermedad vinculada como resultado de deficiencia de **fructosa 1,6-bisfosfatasa** es la **hipoglucemia** inducida por fructosa a pesar de la presencia de reservas altas de glucógeno, debido a que las

fructosas 1-fosfato y 1,6 bisfosfato inhiben de modo alostérico la glucógeno fosforilasa hepática. El secuestro de fosfato inorgánico también conduce a agotamiento de ATP e hiperuricemia.

La fructosa y el sorbitol en el cristalino se relacionan con catarata de origen diabético

En personas con diabetes mellitus hay concentraciones aumentadas tanto de fructosa como de sorbitol en el cristalino que quizá estén implicadas en la patogenia de la **catarata diabética**. La formación de fructosa a partir de glucosa depende de la **vía del sorbitol (poliol)** (que no se encuentra en el hígado) (figura 21-5); la actividad de dicha vía se incrementa a medida que la concentración de glucosa aumenta en los tejidos que no son sensibles a la insulina, es decir, el cristalino, los nervios periféricos y los glomérulos renales. La **aldosa reductasa** reduce la glucosa a sorbitol, lo cual va seguido por oxidación de este último hacia fructosa en presencia de NAD^+ y sorbitol deshidrogenasa (poliol deshidrogenasa). El sorbitol no se difunde a través de las membranas celulares, sino que se acumula, lo que causa daño de origen osmótico. Al mismo tiempo, hay decremento de las cifras de mioinositol. En animales de experimentación, la acumulación de sorbitol y la disminución de mioinositol, así como las cataratas diabéticas, pueden prevenirse mediante inhibidores de la aldosa reductasa. En Japón se ha autorizado el uso de un inhibidor para el tratamiento de neuropatía diabética, aunque hay poca o ninguna evidencia de que los inhibidores sean eficaces para prevenir catarata o lentificar la progresión de neuropatía diabética en seres humanos.

Las deficiencias de enzima en la vía de la galactosa causan galactosemia

En las **galactosemias** hay incapacidad para metabolizar galactosa, y pueden producirse por defectos hereditarios de la galactocinasa, uridil transferasa, o 4-epimerasa (figura 21-6A), aunque la deficiencia de **uridil transferasa** es la mejor conocida. La galactosa es un sustrato para la aldosa reductasa, lo que forma galactitol, que se acumula en el cristalino y ocasiona catarata. La enfermedad general es más grave si depende de un defecto de la uridil transferasa, puesto que se acumula galactosa 1-fosfato y agota el fosfato inorgánico en el hígado; por último sobrevienen insuficiencia hepática y deterioro mental. En la deficiencia de uridil transferasa, la epimerasa está presente en cantidades adecuadas, de manera que el paciente galactosémico aún puede formar UDPGal a partir de la glucosa. Esto explica cómo es posible que los niños afectados tengan crecimiento y desarrollo normales pese a las dietas libres de galactosa usadas para controlar los síntomas de la enfermedad.

RESUMEN

- La vía de la pentosa fosfato, presente en el citosol, puede explicar la oxidación completa de glucosa, lo que produce NADPH y CO_2, no así ATP.
- La vía tiene una fase oxidativa, que es irreversible y genera NADPH, y una fase no oxidativa, que es reversible y proporciona precursores de ribosa para la síntesis de nucleótido. La vía completa se encuentra principalmente en los tejidos que tienen un requerimiento de NADPH para síntesis reductivas, por ejemplo, lipogénesis o esteroidogénesis, mientras que la fase no oxidativa está presente en todas las células que requieren ribosa.
- En los eritrocitos, la vía tiene una función importante en la prevención de la hemólisis al proporcionar NADPH para mantener el glutatión en el estado reducido como el sustrato para la glutatión peroxidasa.
- La vía del ácido urónico es la fuente de ácido glucurónico para conjugación de muchas sustancias endógenas y exógenas antes de excreción como glucurónidos en la orina y la bilis.
- La fructosa sortea el principal paso regulador en la glucólisis, catalizado por la fosfofructocinasa, y estimula la síntesis de ácidos grasos y la secreción hepática de triacilglicerol.
- La galactosa se sintetiza a partir de la glucosa en la glándula mamaria en lactación y en otros tejidos donde se necesita para la síntesis de glucolípidos, proteoglucanos y glucoproteínas.

REFERENCIAS

Ali M, Rellos P, Cox TM: Hereditary fructose intolerance. J Med Gen 1998;35:353.
Cappellini MD, Fiorelli G: Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency. Lancet 2008;371:64.
Dunlop M: Aldose reductase and the role of the polyol pathway in diabetic nephropathy. Kidney Int 2000;77:S3.
Grant CM: Metabolic reconfiguration is a regulated response to oxidative stress. J Biol 2008;7:1.
Hers HG, Hue L: Gluconeogenesis and related aspects of glycolysis. Annu Rev Biochem 1983;52:617.
Horecker BL: The pentose phosphate pathway. J Biol Chem 2002; 277:47965.
Le KA, Tappy L: Metabolic effects of fructose. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2006;9:469.
Leslie ND: Insights into the pathogenesis of galactosemia. Ann Rev Nutr 2003;23:59.
Manganelli G, Fico A, Martini G, et al: (2010). Discussion on pharmacogenetic interaction in G6PD deficiency and methods to identify potential hemolytic drugs. Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets 2010;10:143.
Mayes PA: Intermediary metabolism of fructose. Amer J Clin Nutr 1993;58:754.
Van den Berghe G: Inborn errors of fructose metabolism. Ann Rev Nutr 1994;14:41.
Veech RL: A humble hexose monophosphate pathway metabolite regulates short- and long-term control of lipogenesis. Proc Natl Acad Sci USA 2003;100:5578.
Wamelink MM, Struys EA, Jakobs C: (2008). The biochemistry, metabolism and inherited defects of the pentose phosphate pathway: a review. J Inherit Metab Dis 2008;31:703.
Wong D: Hereditary fructose intolerance. Mol Genet Metab 2005;85:165.

CAPÍTULO

22

Oxidación de ácidos grasos: cetogénesis

Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir los procesos mediante los cuales los ácidos grasos son transportados en la sangre y activados y transportados hacia la matriz de las mitocondrias para desintegración para obtención de energía.
- Esbozar la vía de la β-oxidación mediante la cual los ácidos grasos son metabolizados hacia acetil-CoA, y explicar cómo esto lleva a la producción de grandes cantidades de ATP a partir de los equivalentes reductores producidos durante la β-oxidación y metabolismo adicional de la acetil-CoA por medio del ciclo del ácido cítrico.
- Identificar los tres compuestos denominados "cuerpos cetónicos", y describir las reacciones mediante las cuales se forman en las mitocondrias del hígado.
- Apreciar que los cuerpos cetónicos son combustibles importantes para tejidos extrahepáticos, e indicar las condiciones en las cuales se favorecen su síntesis y uso.
- Indicar las tres etapas en el metabolismo de los ácidos grasos en las cuales se regula la cetogénesis.
- Entender que la sobreproducción de cuerpos cetónicos lleva a cetosis y, si es prolongada, a cetoacidosis, e identificar estados patológicos en los que ocurre esto.
- Dar ejemplos de enfermedades asociadas con oxidación alterada de ácidos grasos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Aun cuando los ácidos grasos son degradados por oxidación hacia acetil-CoA y se sintetizan a partir de esta última, la oxidación de ácidos grasos no es la inversa simple de su biosíntesis, sino que es un proceso por completo diferente que tiene lugar en un compartimiento separado de la célula. La separación entre la oxidación de los ácidos grasos en las mitocondrias y la biosíntesis en el citosol permite que cada proceso se controle de modo individual y se integre con los requerimientos del tejido. Cada paso en la oxidación de ácidos grasos incluye derivados acil-CoA, y es catalizado por enzimas separadas, utiliza NAD^+ y FAD como coenzimas, y genera ATP. Es un proceso aerobio; requiere la presencia de oxígeno.

La oxidación aumentada de ácidos grasos es una característica de la inanición y de la diabetes mellitus, que conduce a la producción de **cuerpos cetónicos** por el hígado **(cetosis)**. Los cuerpos cetónicos son ácidos, y cuando se producen en exceso durante periodos prolongados, como en la diabetes, dan por resultado **cetoacidosis**, que por último es mortal. Dado que la gluconeogénesis depende de la oxidación de ácidos grasos, cualquier deterioro de dicha oxidación da pie a **hipoglucemia**. Esto ocurre en diversos estados de **deficiencia de carnitina** o deficiencias de enzimas esenciales en la oxidación de ácidos grasos, por ejemplo, **carnitina palmitoiltransferasa**, o inhibición de la oxidación de ácidos grasos por venenos, por ejemplo, **hipoglicina**.

LA OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS OCURRE EN LAS MITOCONDRIAS

Los ácidos grasos se transportan en la sangre como ácidos grasos libres (FFA)

Los FFA —también denominados ácidos grasos no esterificados— son ácidos grasos que se encuentran en el **estado no esterificado**. En el plasma, los FFA de cadena más larga se combinan con **albúmina**, y en la célula están fijos a una **proteína de unión a ácido graso** así que, de hecho, nunca son en realidad "libres".

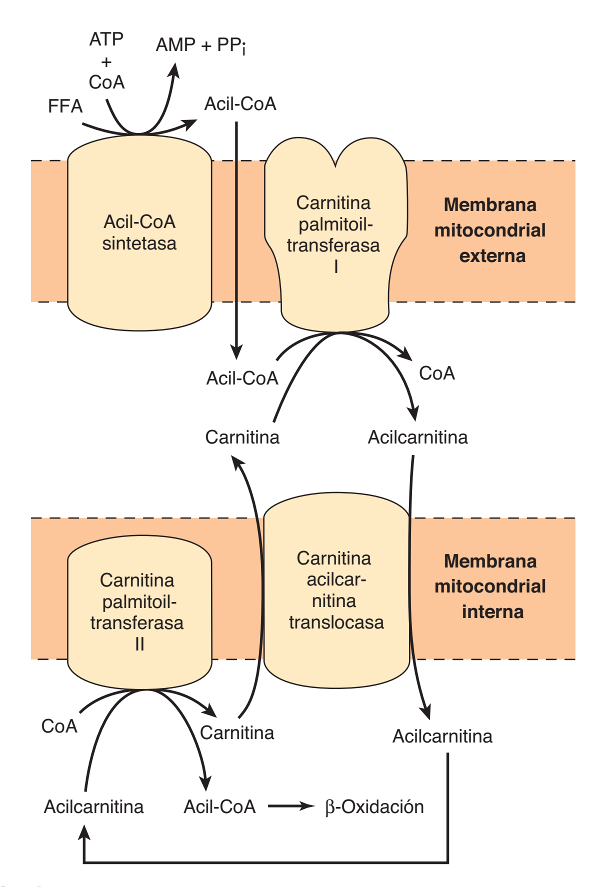


FIGURA 22–1 Función de la carnitina en el transporte de ácidos grasos de cadena larga a través de la membrana mitocondrial interna. La acil-CoA de cadena larga no puede pasar por la membrana mitocondrial interna, pero su producto metabólico, la acilcarnitina, sí puede hacerlo.

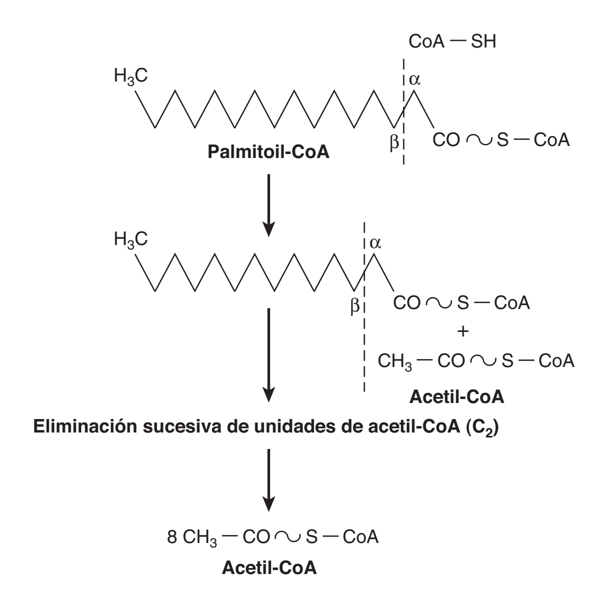


FIGURA 22–2 Perspectiva de la β-oxidación de ácidos grasos.

Los ácidos grasos de cadena más corta son más hidrosolubles y existen como el ácido no ionizado o como un anión ácido graso.

Los ácidos grasos se activan antes de ser catabolizados

Antes de que los ácidos grasos se puedan catabolizar deben convertirse en un intermediario activo; es el único paso en la degradación completa de un ácido graso que necesita energía proveniente del ATP. En presencia de ATP y coenzima A, la enzima **acil-CoA sintetasa (tiocinasa)** cataliza la conversión de un ácido graso (o FFA) en un "ácido graso activo" o acil-CoA, que usa un fosfato de alta energía con la formación de AMP y PP_i (**figura 22-1**). La **pirofosfatasa inorgánica** hidroliza al PP_i, con pérdida de otro fosfato de alta energía, lo que asegura que la reacción general continúe hasta que se complete. Las acil-CoA sintetasas se encuentran en el retículo endoplásmico, los peroxisomas, y dentro y sobre la membrana externa de las mitocondrias.

Los ácidos grasos de cadena larga penetran en la membrana mitocondrial interna como derivados de carnitina

La **carnitina** (β-hidroxi-γ-trimetilamonio butirato), $(CH_3)_3N^+$—CH_2—CH(OH)—CH_2—COO–, se encuentra ampliamente distribuida, y es en particular abundante en el músculo. La acil-CoA de cadena larga (o FFA) no puede penetrar en la membrana interna de las mitocondrias. Sin embargo, en presencia de carnitina, la **carnitina palmitoiltransferasa-I**, ubicada en la membrana mitocondrial externa, convierte a la acil-CoA de cadena larga en **acilcarnitina**, que tiene la capacidad para penetrar en la membrana interna y tener acceso al sistema de enzimas de β-oxidación (figura 22-1). La **carnitina-acilcarnitina translocasa** actúa como un transportador de intercambio de membrana interna. La acilcarnitina es transportada hacia adentro, acoplada con el transporte hacia afuera de una molécula de carnitina. A continuación la acilcarnitina reacciona con la CoA, lo cual es catalizado por la **carnitina palmitoiltransferasa-II**, ubicada en el interior de la membrana interna, con lo que vuelve a formarse acil-CoA en la matriz mitocondrial, y se libera carnitina.

LA β-OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS COMPRENDE DIVISIÓN SUCESIVA CON LIBERACIÓN DE ACETIL-CoA

En la **β-oxidación (figura 22-2)**, dos carbonos a la vez se separan de moléculas de acil-CoA, empezando en el extremo carbonilo. La cadena se rompe entre los átomos de carbono α(2) y β(3) —de ahí el nombre β-oxidación—. Las unidades de dos carbonos que se forman son acetil-CoA; así, la palmitoil-CoA forma ocho moléculas de acetil-CoA.

La secuencia de reacción cíclica genera $FADH_2$ y NADH

Varias enzimas, conocidas en conjunto como "ácido graso oxidasas", se encuentran en la matriz mitocondrial o membrana interna adyacentes a la cadena respiratoria. Éstas catalizan la oxidación de acil-CoA hacia acetil-CoA; el sistema está acoplado con la fosforilación de ADP hacia ATP (**figura 22-3**).

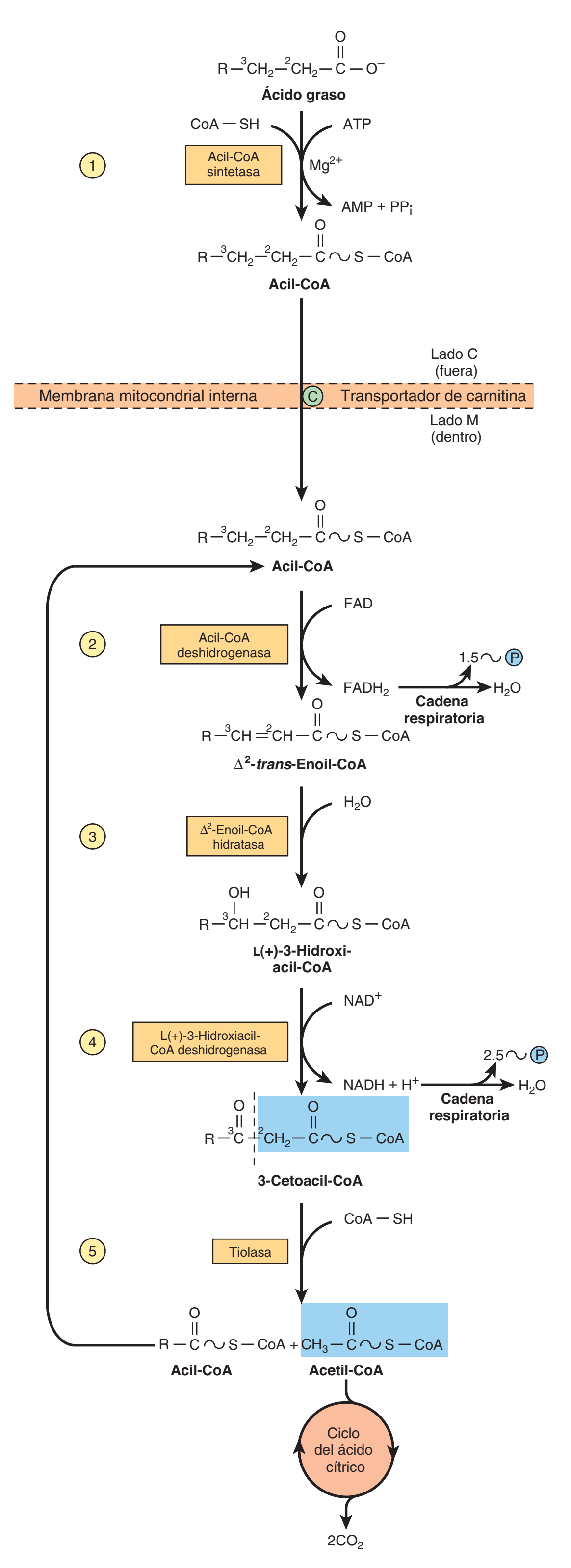


FIGURA 22–3 **β-Oxidación de ácidos grasos.** La acil-CoA de cadena larga pasa por ciclos a través de reacciones , a ②–⑤; cada ciclo, la tiolasa separa acetil-CoA (reacción ⑤). Cuando el radical acilo sólo tiene cuatro átomos de carbono de longitud, se forman dos moléculas de acetil-CoA en la reacción ⑤.

El primer paso es la eliminación de dos átomos de hidrógeno de los átomos de carbono 2(α) y 3(β), lo cual es catalizado por la **acil-CoA deshidrogenasa**, y requiere FAD. Esto origina la formación de Δ^2-*trans*-enoil-CoA y $FADH_2$. La reoxidación de $FADH_2$ por la cadena respiratoria necesita la mediación de otra flavoproteína, llamada **flavoproteína transferidora de electrón** (cap. 12). Se añade agua para saturar el doble enlace y formar 3-hidroxiacil-CoA, lo cual es catalizado por la **Δ^2-enoil-CoA hidratasa**. El derivado 3-hidroxi pasa por más deshidrogenación en el carbono 3, catalizado por la **L(+)-3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa** para formar el compuesto 3-cetoacil-CoA correspondiente. En este caso, el NAD^+ es la coenzima involucrada. Por último, la 3-cetoacil-CoA se divide en la posición 2,3 por medio de la **tiolasa** (3-cetoacil-CoA-tiolasa), lo que forma acetil-CoA y una nueva acil-CoA dos carbonos más corta que la molécula de acil-CoA original. La acil-CoA formada en la reacción de división vuelve a entrar a la vía oxidativa en la reacción 2 (figura 22-3). De este modo, un ácido graso de cadena larga puede degradarse por completo hacia acetil-CoA (unidades C_2). Puesto que la acetil-CoA se puede oxidar hacia CO_2 y agua mediante el ciclo del ácido cítrico (que también se encuentra dentro de las mitocondrias), se logra la oxidación completa de ácidos grasos.

La oxidación de un ácido graso con un número impar de átomos de carbono da acetil-CoA más una molécula de propionil-CoA

Los ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono se oxidan por medio de la vía de la β-oxidación, lo que produce acetil-CoA, hasta que queda un residuo de tres carbonos (propionil-CoA). Este compuesto se convierte en succinil-CoA, un constituyente del ciclo del ácido cítrico (figura 20-2). En consecuencia, **el residuo propionilo de un ácido graso de cadena impar es la única parte de un ácido graso que es glucogénica.**

La oxidación de ácidos grasos produce una gran cantidad de ATP

El transporte en la cadena respiratoria de electrones desde $FADH_2$ y NADH lleva a la síntesis de cuatro fosfatos de alta energía (cap. 13) para cada uno de los siete ciclos necesarios para la desintegración del ácido graso C16, palmitato, hacia acetil-CoA (7 × 4 = 28). Se forma un total de 8 mol de acetil-CoA y cada uno da lugar a 10 mol de ATP en el momento de la oxidación en el ciclo del ácido cítrico, lo que hace 8 × 10 = 80 mol. Dos deben sustraerse para la activación inicial del ácido graso, lo que da una ganancia neta de 106 mol de ATP por cada mol de palmitato, o 106 × 51.6* = 5 470 kJ; esto representa 68% de la energía libre de combustión del ácido palmítico.

Los peroxisomas oxidan ácidos grasos de cadena muy larga

Una forma modificada de β-oxidación se encuentra en los **peroxisomas**, y conduce a la formación de acetil-CoA y H_2O_2 (a partir del paso de deshidrogenasa enlazado a flavoproteína), que

*Δ*G* para la reacción de ATP, como se explica en el capítulo 18.

se desintegra mediante catalasa (cap. 12). Así, esta deshidrogenación en peroxisomas no está enlazada de modo directo a fosforilación y la generación de ATP. El sistema facilita la oxidación de **ácidos grasos de cadena muy larga** (p. ej., C_{20}, C_{22}). Estas enzimas se inducen por dietas con alto contenido de grasa, y en algunas especies por fármacos hipolipemiantes como el clofibrato.

Las enzimas en peroxisomas no atacan a ácidos grasos de cadena más corta; la secuencia de β-oxidación termina en octanoil-CoA. Los grupos octanoilo y acetilo se oxidan más en las mitocondrias. Otra función de la β-oxidación peroxisómica es acortar la cadena lateral de colesterol en la formación de ácido biliar (cap. 26). Asimismo, los peroxisomas participan en la síntesis de glicerolípidos éter (cap. 24), colesterol y dolicol (figura 26-2).

LA OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS OCURRE POR MEDIO DE UNA VÍA DE β-OXIDACIÓN MODIFICADA

Los ésteres CoA de ácidos grasos insaturados se degradan mediante las enzimas que en circunstancias normales se encargan de la β-oxidación hasta que se forma un compuesto Δ^3-*cis*-acil-CoA o uno Δ^4-*cis*-acil-CoA, de acuerdo a la posición de los dobles enlaces (**figura 22-4**). El compuesto anterior se isomeriza (**Δ^3*cis* → Δ^2-*trans*-enoil-CoA isomerasa**) hacia la etapa de β-oxidación Δ^2-*trans*-CoA correspondiente para hidratación y oxidación subsiguientes. Cualquier Δ^4-*cis*-acil-CoA que quede, como en el caso del ácido linoleico, o que entre a la vía en este punto después de conversión por la acil-CoA deshidrogenasa hacia Δ^2-*trans*-Δ^4-*cis*-dienoil-CoA, luego se metaboliza como se indica en la figura 22-4.

LA CETOGÉNESIS SUCEDE CUANDO HAY UN ÍNDICE ALTO DE OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN EL HÍGADO

En condiciones metabólicas relacionadas con un índice alto de oxidación de ácidos grasos, el hígado produce considerables cantidades de **acetoacetato** y **D(–)-3-hidroxibutirato** (β-hidroxibutirato). El acetoacetato pasa de manera continua por descarboxilación espontánea para dar **acetona**. Estas tres sustancias se conocen en conjunto como **cuerpos cetónicos** (también denominados cuerpos de acetona o [de modo incorrecto*] “cetonas”) (**figura 22-5**). El acetoacetato y el 3-hidroxibutirato son interconvertidos por la enzima mitocondrial **D(–)-3-hidroxibutirato deshidrogenasa**; el equilibrio es controlado por la proporción

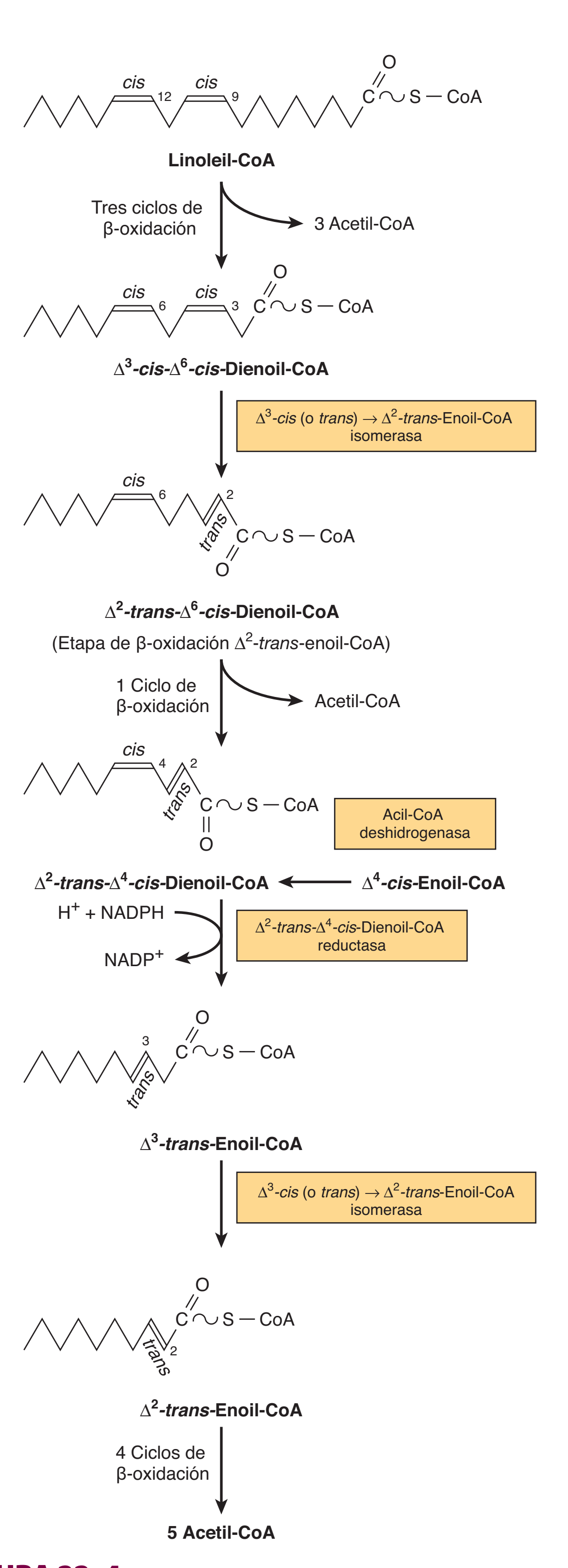


FIGURA 22–4 Secuencia de reacciones en la oxidación de ácidos grasos insaturados, por ejemplo, ácido linoleico. Los ácidos grasos Δ^4-*cis* o los ácidos grasos que forman Δ^4-*cis*-enoil-CoA entran a la vía en la posición mostrada. El NADPH para el paso de la dienoil-CoA reductasa es proporcionado por fuentes intramitocondriales, como la glutamato deshidrogenasa, isocitrato deshidrogenasa y NAD(P)H transhidrogenasa.

* El término “cetonas” no debe usarse porque el 3-hidroxibutirato no es una cetona y hay cetonas en la sangre que no son cuerpos cetónicos, como el piruvato y la fructosa.

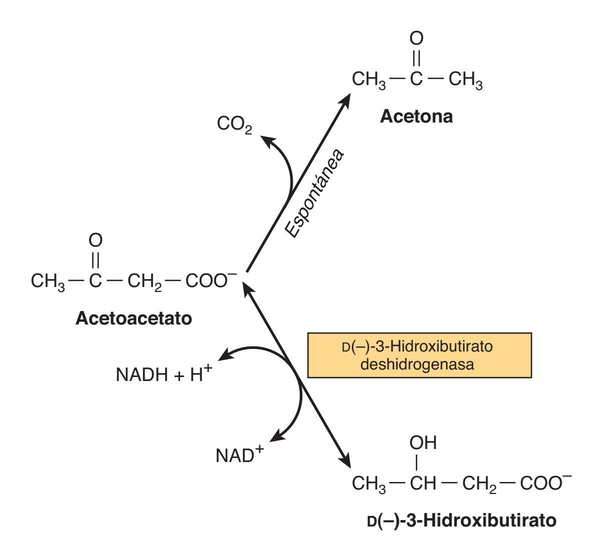


FIGURA 22–5 Interrelaciones de los cuerpos cetónicos. La D(–)-3-hidroxibutirato deshidrogenasa es una enzima mitocondrial.

$[NAD^+]/[NADH]$ mitocondrial, es decir, el **estado de redox**. La concentración de cuerpos cetónicos totales en la sangre de mamíferos bien alimentados por lo normal no excede 0.2 mmol/L excepto en rumiantes, en los cuales se forma de manera continua 3-hidroxibutirato a partir de ácido butírico (un producto de la fermentación en el rumen) en la pared del rumen. *In vivo*, el hígado parece ser el único órgano en no rumiantes que contribuye con cantidades importantes de cuerpos cetónicos a la sangre. Los tejidos extrahepáticos los utilizan como sustratos respiratorios. El flujo neto de cuerpos cetónicos desde el hígado hacia los tejidos extrahepáticos da por resultado síntesis hepática activa, junto con utilización muy baja. Ocurre la situación inversa en tejidos extrahepáticos (**figura 22-6**).

La 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) es un intermediario en la vía de la cetogénesis

Las enzimas de las cuales depende la formación de cuerpos cetónicos se relacionan sobre todo con las mitocondrias. Dos moléculas de acetil-CoA formadas en la β-oxidación se condensan para formar acetoacetil-CoA por medio de una reversión de la reacción de la **tiolasa**. La acetoacetil-CoA, que es el material inicial para la cetogénesis, también surge de modo directo a partir de los cuatro carbonos terminales de un ácido graso en el transcurso de la β-oxidación (**figura 22-7**). La condensación de acetoacetil-CoA con otra molécula de acetil-CoA mediante la **3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA sintasa** forma 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA **(HMG-CoA).** La **3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA liasa** hace entonces que la acetil-CoA se separe de la HMG-CoA, lo que deja acetoacetato libre. Los átomos de carbono separados en la molécula de acetil-CoA se derivan de la molécula de acetoacetil-CoA original. **Ambas enzimas deben estar presentes en las mitocondrias para que tenga lugar la cetogénesis**. Esto sólo ocurre en el hígado y el epitelio del rumen. Desde el punto de vista cuantitativo, el D(–)-3-hidroxibutirato es el cuerpo cetónico predominante presente en la sangre y la orina cuando hay cetosis.

Los cuerpos cetónicos sirven como un combustible para tejidos extrahepáticos

Si bien un mecanismo enzimático activo produce acetoacetato a partir de acetoacetil-CoA en el hígado, el acetoacetato, una vez formado, no se puede reactivar de manera directa salvo en el citosol, donde se usa en una vía mucho menos activa como un precursor en la síntesis de colesterol. Esto explica la producción neta de cuerpos cetónicos por el hígado.

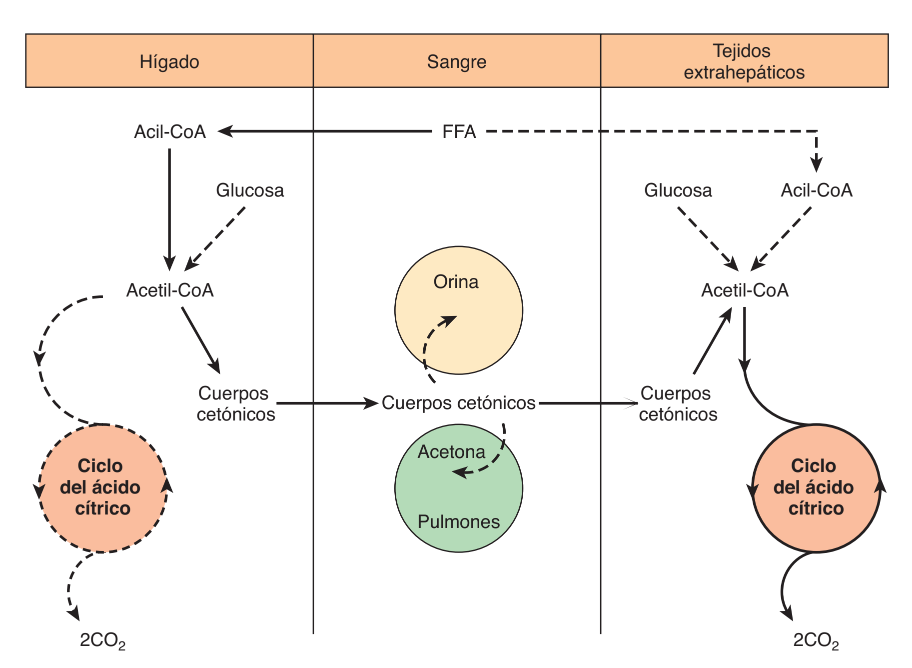


FIGURA 22–6 Formación, utilización y excreción de cuerpos cetónicos. (Las flechas continuas indican la principal vía.)

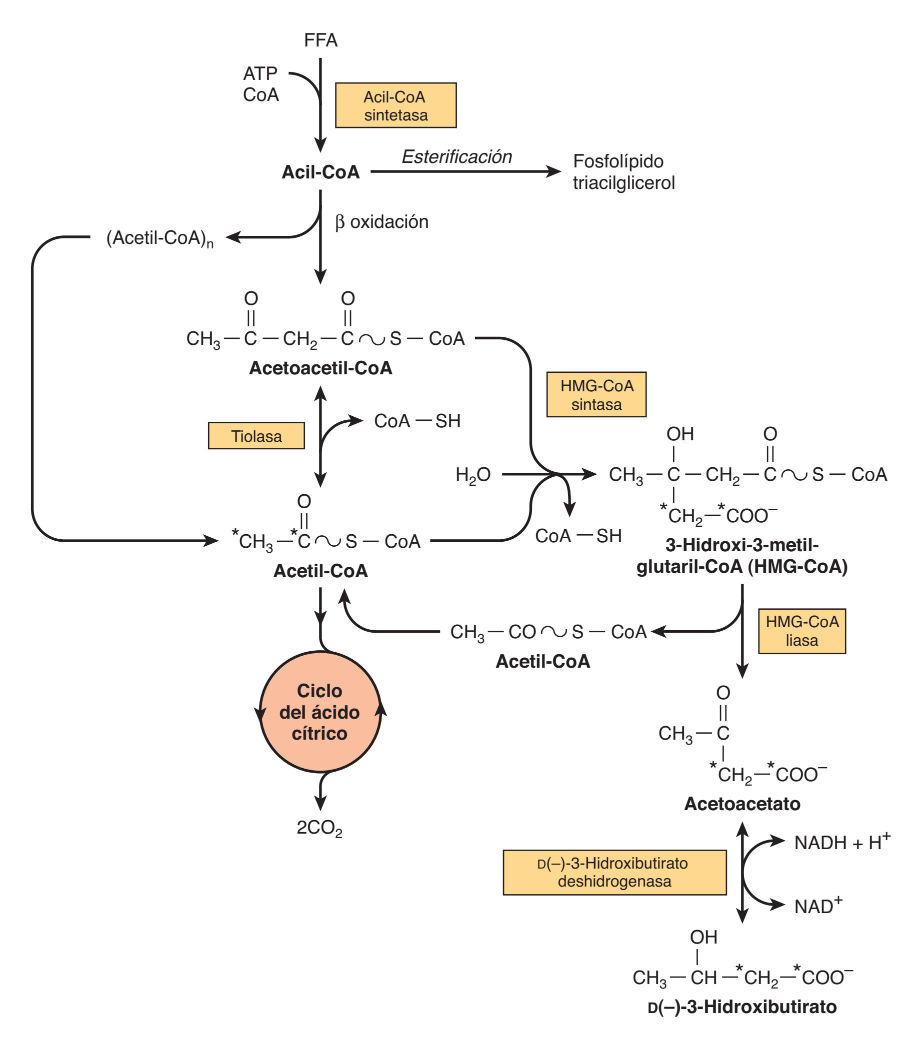


FIGURA 22–7 **Vías de la cetogénesis en el hígado.** (FFA, ácidos grasos libres.)

En tejidos extrahepáticos, el acetoacetato se activa hacia acetoacetil-CoA por medio de la **succinil-CoA-acetoacetato CoA transferasa**. La CoA se transfiere desde la succinil-CoA para formar acetoacetil-CoA (**figura 22-8**). Con la adición de una CoA, la acetoacetil-CoA se divide en dos acetil-CoA mediante tiolasa, y se oxida en el ciclo del ácido cítrico. Si hay incremento de las cifras sanguíneas, la oxidación de cuerpos cetónicos aumenta hasta que, a una concentración de alrededor de 12 mmol/L, saturan la maquinaria oxidativa. Cuando sucede esto, una proporción grande del consumo de oxígeno puede explicarse por la oxidación de cuerpos cetónicos.

En la mayor parte de los casos, la **cetonemia se debe a incremento de la producción de cuerpos cetónicos** por el hígado, más que a una deficiencia de su utilización por los tejidos extrahepáticos. Aun cuando los tejidos extrahepáticos oxidan con facilidad el acetoacetato y el D(−)-3-hidroxibutirato, la acetona es difícil de oxidar *in vivo,* y en gran parte se volatiliza en los pulmones.

En la cetonemia moderada, la pérdida de cuerpos cetónicos por medio de la orina sólo es un porcentaje bajo de la producción y utilización totales de cuerpos cetónicos. Dado que hay efectos parecidos a umbral renal (no hay un umbral verdadero) que varían entre especies e individuos, el método preferido para evaluar la gravedad de la cetosis es la medición de la cetonemia, no de la cetonuria.

LA CETOGÉNESIS ESTÁ REGULADA EN TRES PASOS CRUCIALES

1. La cetosis no sucede *in vivo* a menos que haya un aumento de las cifras de FFA circulantes que surgen a partir de lipólisis de triacilglicerol en tejido adiposo. **Los FFA son los precursores de cuerpos cetónicos en el hígado;** este último, en condiciones tanto posprandiales como de ayuno, extrae alrededor de 30% de los FFA que pasan por él, de modo que a concentraciones altas el flujo que pasa hacia el hígado es considerable. **Por ende, los factores que regulan la movilización de FFA desde el tejido adiposo son importantes en el control de la cetogénesis** (**figuras 22-9** y 25-8).
2. Después de captación por el hígado, los FFA son objeto de **β-oxidación** hacia CO_2 o cuerpos cetónicos, o de **esterificación** hacia triacilglicerol y fosfolípido. Hay regulación de la entrada de ácidos grasos hacia la vía oxidativa mediante la **carnitina palmitoiltransferasa-I** (CPT-I), y el resto de los ácidos grasos captados se esterifica. La actividad de CPT-I

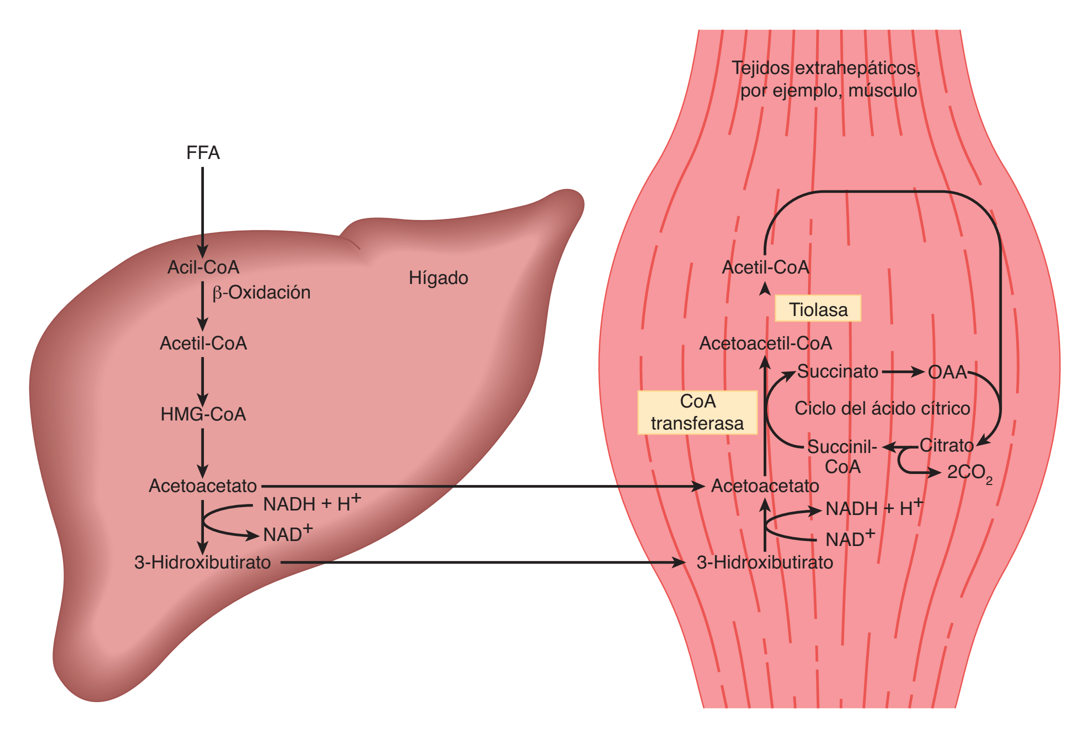


FIGURA 22–8 **Transporte de cuerpos cetónicos desde el hígado y vías de utilización y oxidación en tejidos extrahepáticos.**

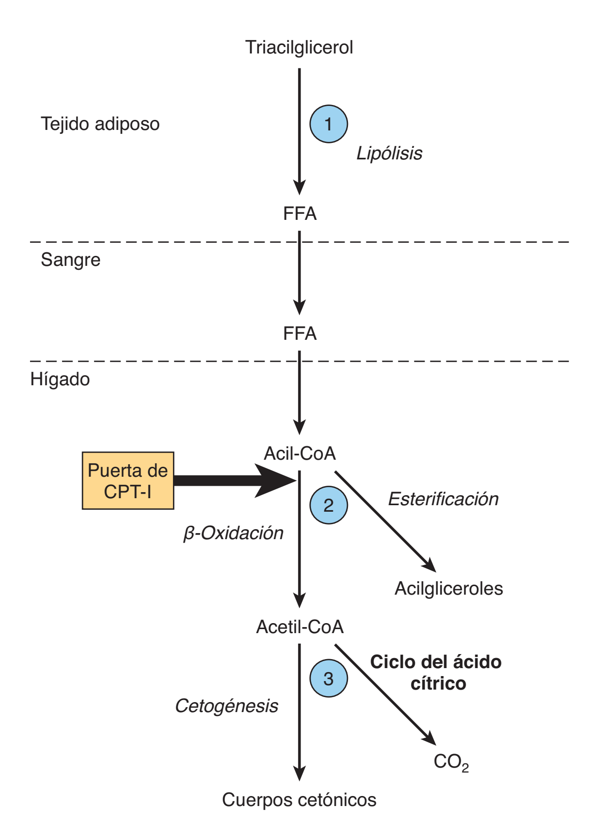


FIGURA 22–9 **Regulación de la cetogénesis.** ①–③ muestran tres pasos cruciales en la vía del metabolismo de FFA que determinan la magnitud de la cetogénesis. (CPT-I, carnitina palmitoiltransferasa-I.)

es baja en el estado posprandial, lo que da pie a depresión de la oxidación de ácidos grasos, y alta en la inanición, lo que permite que haya incremento de la oxidación de ácidos grasos. La **malonil-CoA**, el intermediario inicial en la biosíntesis de ácidos grasos (figura 23-1), formado por la acetil-CoA carboxilasa en el estado posprandial, es un potente inhibidor de la CPT-I (**figura 22-10**). En estas circunstancias, los FFA entran a la célula hepática en cifras bajas, y casi todos se esterifican hacia acilgliceroles y se transportan hacia afuera del hígado en **lipoproteínas de muy baja densidad** (VLDL). Empero, conforme la concentración de FFA aumenta con el inicio de inanición, la acil-CoA inhibe de manera directa a la acetil-CoA carboxilasa, y la (malonil-CoA) disminuye, lo que libera la inhibición de la CPT-I y permite que más acil-CoA pase por β-oxidación. Estos eventos se refuerzan en la inanición por un decremento de la **proporción (insulina)/(glucagón)**. Así, la β-oxidación por FFA está controlada por la puerta de CPT-I hacia la mitocondria, y el saldo de la captación de FFA no oxidado es esterificado.

3. Por su parte, la acetil-CoA formada en la β-oxidación se oxida en el ciclo del ácido cítrico, o entra en la vía de la cetogénesis para formar cuerpos cetónicos. A medida que las cifras de FFA séricos se incrementan, proporcionalmente más FFA se convierte en cuerpos cetónicos, y menos se oxida por medio del ciclo del ácido cítrico hacia CO_2. La partición de acetil-CoA entre la vía cetogénica y la vía de oxidación hacia CO_2 está regulada de modo que la energía libre total captada en ATP que se produce por la oxidación de FFA permanece constante conforme su concentración en el suero cambia. Esto se aprecia cuando se comprende que la oxidación completa de 1 mol de palmitato implica una

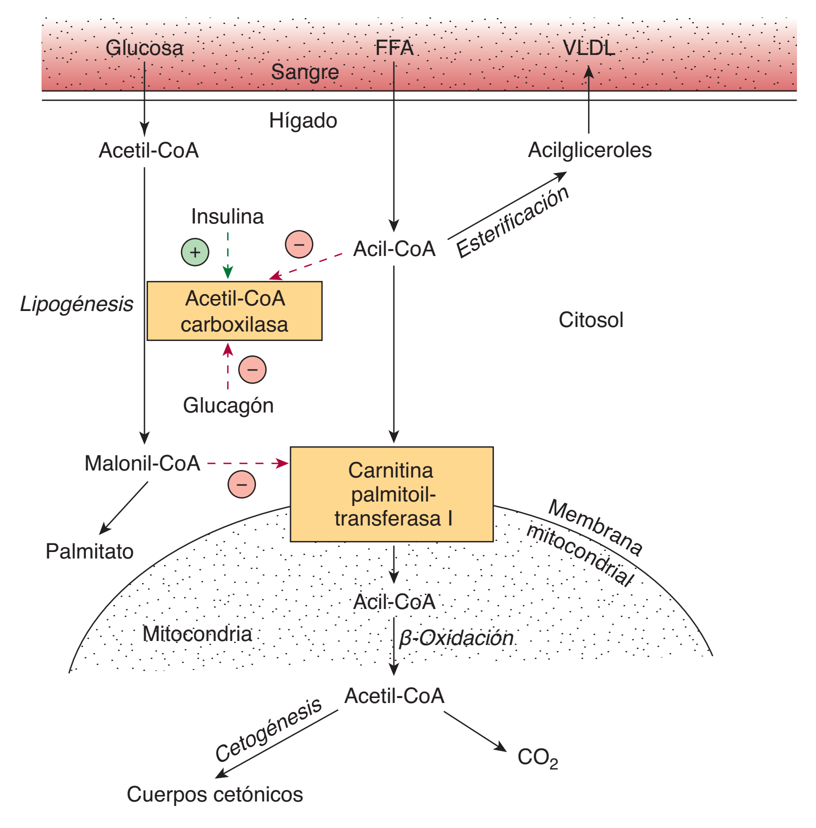


FIGURA 22–10 Regulación de la oxidación de ácidos grasos de cadena larga en el hígado. (FFA, ácidos grasos libres; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad.) Los efectos reguladores positivo (⊕) y negativo (⊖) están representados mediante flechas discontinuas, y el flujo de sustrato por flechas continuas.

producción neta de 106 mol de ATP mediante β-oxidación y producción de CO_2 en el ciclo del ácido cítrico (véase antes), mientras que sólo se producen 26 mol de ATP cuando el acetoacetato es el producto terminal, y sólo 21 mol cuando el 3-hidroxibutirato es dicho producto. De esta manera, la cetogénesis puede considerarse un mecanismo que permite al hígado oxidar cantidades crecientes de ácidos grasos dentro de las restricciones de un sistema estrechamente acoplado de fosforilación oxidativa.

Una aminoración de las cifras de oxaloacetato, en particular dentro de la mitocondria, es posible que altere la capacidad del ciclo del ácido cítrico para metabolizar acetil-CoA y desviar la oxidación de ácidos grasos hacia la cetogénesis. Esa disminución puede ocurrir debido a un aumento de la proporción $(NADH)/(NAD^+)$ suscitado por incremento de la β-oxidación de ácidos grasos que afecta el equilibrio entre oxaloacetato y malato, lo que lleva a un decremento de la concentración de oxaloacetato, y cuando la gluconeogénesis está alta, lo que sobreviene cuando las cifras sanguíneas de glucosa son bajas. La activación de piruvato carboxilasa, que cataliza la conversión de piruvato en oxaloacetato, por medio de acetil-CoA, alivia en forma parcial este problema, pero en circunstancias como inanición y diabetes mellitus no tratada, los cuerpos cetónicos se producen en exceso, lo que origina cetosis.

ASPECTOS CLÍNICOS

La oxidación alterada de ácidos grasos da lugar a enfermedades que suelen mostrar vínculo con hipoglucemia

La **deficiencia de carnitina** puede aparecer sobre todo en el recién nacido —de modo particular en lactantes pretérmino— debido a biosíntesis inadecuada o escape renal. Las pérdidas también llegan a suceder en la hemodiálisis. Ello sugiere que en algunos enfermos el requerimiento de carnitina en la dieta es parecido al de una vitamina. Los síntomas de deficiencia son hipoglucemia, que es una consecuencia de oxidación alterada de ácidos grasos, y acumulación de lípido con debilidad muscular. El tratamiento consta de complementos de carnitina por vía oral.

La **deficiencia** hereditaria de **CPT-I** sólo afecta el hígado y ocasiona oxidación de ácidos grasos y cetogénesis reducidas, con hipoglucemia. La **deficiencia de CPT-II** afecta de modo primario el músculo estriado y, cuando es grave, el hígado. Los medicamentos sulfonilurea (**gliburida** [**glibenclamida**] y **tolbutamida**), usados en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2, reducen la oxidación de ácidos grasos y, por consiguiente, la hiperglucemia al inhibir la CPT-I.

Los defectos hereditarios de las enzimas de la β-oxidación y de la cetogénesis también llevan a hipoglucemia no cetósica,

coma e hígado graso. Se conocen defectos en la 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadenas larga y corta (la deficiencia de la enzima de cadena larga puede ser una causa de **hígado graso agudo del embarazo**). La **deficiencia de 3-cetoacil-CoA tiolasa** y de **HMG-CoA liasa** también afecta la degradación de leucina, un aminoácido cetogénico (cap. 29).

La **enfermedad del vómito jamaicano** se produce por comer la fruta no madura del árbol *Blighia sapida*, que contiene la toxina **hipoglicina**, la cual desactiva a la acil-CoA deshidrogenasa de cadenas media y corta, lo que inhibe la β-oxidación y origina hipoglucemia. La **aciduria dicarboxílica** se caracteriza por la excreción de ácidos C_6–C_{10} ω-dicarboxílicos y por hipoglucemia no cetósica, y se produce por una falta de **acil-CoA deshidrogenasa de cadena media** mitocondrial. La **enfermedad de Refsum** es un raro trastorno neurológico debido a un defecto metabólico que causa la acumulación de ácido fitánico, que se encuentra en productos lácteos, y en la grasa y carne de rumiantes. Se cree que dicho ácido tiene efectos patológicos sobre la fusión de membrana, la prenilación de proteína y la expresión de gen. El **síndrome de Zellweger (cerebrohepatorrenal)** ocurre en individuos que tienen una rara falta hereditaria de peroxisomas en todos los tejidos. Acumulan ácidos C_{26}-C_{38} polienoicos en el tejido cerebral, y muestran una pérdida generalizada de funciones de peroxisomas. La enfermedad suscita síntomas neurológicos graves, y la mayoría de los sujetos muere en el transcurso del primer año de vida.

La cetoacidosis se produce por cetosis prolongada

La presencia de cantidades más altas que lo normal de cuerpos cetónicos en la sangre o la orina constituye la **cetonemia** (hipercetonemia) o **cetonuria**, respectivamente. El estado general se llama **cetosis**. La forma básica de la cetosis sucede en la **inanición**, y comprende agotamiento del carbohidrato disponible junto con movilización de FFA. Este modelo general de metabolismo se exagera para producir los estados patológicos que se encuentran en la **diabetes mellitus, la forma tipo 2 la cual es cada vez más frecuente en países occidentales; la enfermedad de los corderos gemelos,** y la **cetosis en ganado vacuno en lactación.** Las formas no patológicas de cetosis se encuentran en situaciones de alimentación con alto contenido de grasa, y luego de ejercicio intenso durante el estado posterior a la absorción.

Los ácidos acetoacético y 3-hidroxibutírico son moderadamente fuertes, y están amortiguados cuando están presentes en sangre u otros tejidos. Con todo, su excreción continua en gran cantidad agota de manera progresiva la reserva de álcalis, lo que produce **cetoacidosis.** Esto puede ser mortal en la **diabetes mellitus** no controlada.

RESUMEN

- La oxidación de ácidos grasos en las mitocondrias conduce a la generación de grandes cantidades de ATP mediante un proceso llamado β-oxidación que divide unidades de acetil-CoA de modo secuencial a partir de cadenas de acil graso. La acetil-CoA se oxida en el ciclo del ácido cítrico, lo que genera más ATP.
- Los cuerpos cetónicos (acetoacetato, 3-hidroxibutirato y acetona) se forman en las mitocondrias hepáticas, cuando hay un índice alto de oxidación de ácidos grasos. La vía de la cetogénesis incluye síntesis y desintegración de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) por medio de dos enzimas clave, la HMG-CoA sintasa y la HMG-CoA liasa.
- Los cuerpos cetónicos son combustibles importantes en tejidos extrahepáticos.
- La cetogénesis se regula con tres pasos cruciales: 1) el control de la movilización de FFA desde el tejido adiposo; 2) la actividad de la carnitina palmitoiltransferasa-I en el hígado, que determina la proporción del flujo de ácidos grasos que se oxida en lugar de esterificarse, y 3) partición de acetil-CoA entre la vía de la cetogénesis y el ciclo del ácido cítrico.
- Las enfermedades relacionadas con deterioro de la oxidación de ácidos grasos llevan a hipoglucemia, infiltración grasa de órganos, e hipocetonemia.
- La cetosis es leve en la inanición pero grave en la diabetes mellitus y en la cetosis de rumiantes.

REFERENCIAS

Eaton S, Bartlett K, Pourfarzam M: Mammalian mitochondrial β-oxidation. Biochem J 1996;320:345.

Fukao T, Lopaschuk GD, Mitchell GA: Pathways and control of ketone body metabolism: on the fringe of lipid metabolism. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2004;70:243.

Gurr MI, Harwood JL, Frayn K: *Lipid Biochemistry.* Blackwell Publishing, 2002.

Reddy JK, Mannaerts GP: Peroxisomal lipid metabolism. Annu Rev Nutr 1994;14:343.

Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Wood PA: Defects in mitochondrial beta-oxidation of fatty acids. Curr Opin Lipidol 1999;10:107.

CAPÍTULO

23

Biosíntesis de ácidos grasos y eicosanoides

Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir la reacción catalizada por la acetil-CoA carboxilasa, y entender los mecanismos mediante los cuales se regula su actividad para controlar la tasa de síntesis de ácidos grasos.
- Esbozar la estructura del complejo multienzimático de la ácido graso sintasa, indicando la secuencia de enzimas en las dos cadenas peptídicas del homodímero.
- Explicar cómo los ácidos grasos de cadena larga son sintetizados por medio de la condensación repetida de dos unidades de carbono, con favorecimiento de la formación del palmitato de 16 carbonos en casi todos los tejidos, e identificar los cofactores requeridos.
- Indicar las fuentes de equivalentes reductores (NADPH) para la síntesis de ácidos grasos.
- Entender cómo el estado nutricional regula la síntesis de ácidos grasos, e identificar otros mecanismos de control que operan además de la modulación de la actividad de la acetil-CoA carboxilasa.
- Identificar los ácidos grasos esenciales desde el punto de vista nutricional, y explicar por qué no se pueden sintetizar en el organismo.
- Explicar cómo los ácidos grasos poliinsaturados son sintetizados mediante desaturasa y enzimas de alargamiento.
- Esbozar las vías de la ciclooxigenasa y de la lipooxigenasa de las cuales depende la formación de las diversas clases de eicosanoides.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los ácidos grasos se sintetizan por medio de un **sistema extramitocondrial** que se encarga de la síntesis completa de palmitato a partir de acetil-CoA en el citosol. En casi todos los mamíferos, la glucosa es el sustrato primario para la lipogénesis, pero en rumiantes es el acetato, la principal molécula combustible producida por la dieta. En seres humanos no se han informado enfermedades cruciales de la vía. Sin embargo, en la **diabetes mellitus** tipo 1 (insulinodependiente) hay inhibición de la lipogénesis, y las variaciones en la actividad del proceso influyen sobre la naturaleza y extensión de la **obesidad**.

Los ácidos grasos insaturados en fosfolípidos de la membrana celular tienen importancia en el mantenimiento de la fluidez de la membrana. Se considera que una proporción entre ácidos grasos poliinsaturados y saturados (proporción P:S) alta en la dieta es beneficiosa para prevenir cardiopatía coronaria. Los tejidos animales tienen capacidad limitada para desaturar ácidos grasos, y requieren ciertos ácidos grasos poliinsaturados provenientes de la dieta, derivados de vegetales. Estos **ácidos grasos esenciales** se usan para formar ácidos grasos eicosanoicos (C_{20}), que dan lugar a los **eicosanoides** prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y lipoxinas. Las prostaglandinas median la **inflamación** y el **dolor** e inducen el **sueño**; también regulan la **coagulación de la sangre** y la **reproducción**. Los **antiinflamatorios no esteroideos (AINE)**, como el ácido acetilsalicílico (**aspirina**) y el **ibuprofeno**, actúan al inhibir la síntesis de prostaglandina. Los leucotrienos tienen propiedades de contracción muscular y quimiotácticas, y son importantes en reacciones alérgicas e inflamación.

LA PRINCIPAL VÍA PARA LA SÍNTESIS *DE NOVO* DE ÁCIDOS GRASOS (LIPOGÉNESIS) OCURRE EN EL CITOSOL

Este sistema está presente en muchos tejidos, entre ellos hepático, renal, pulmonar, de la glándula mamaria y adiposo. Sus re-

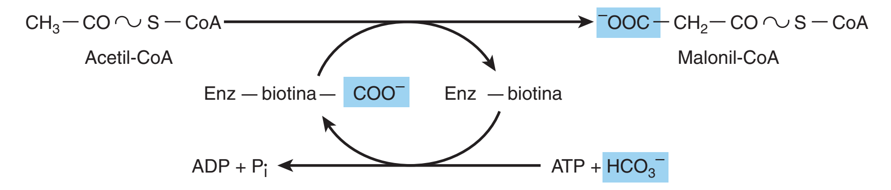


FIGURA 23–1 Biosíntesis de malonil-CoA. (Enz, acetil-CoA carboxilasa.)

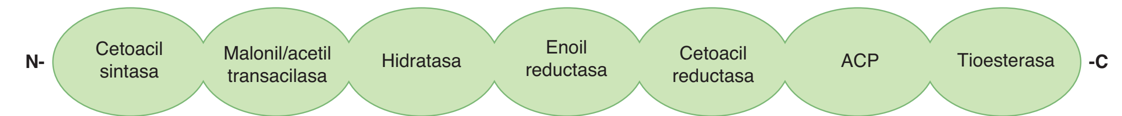
querimientos de cofactor incluyen NADPH, ATP, Mn^{2+}, biotina y HCO_3^- (una fuente de CO_2). La **acetil-CoA** es el sustrato inmediato y el **palmitato libre** es el producto terminal.

La producción de malonil-CoA es el paso inicial y controlador en la síntesis de ácidos grasos

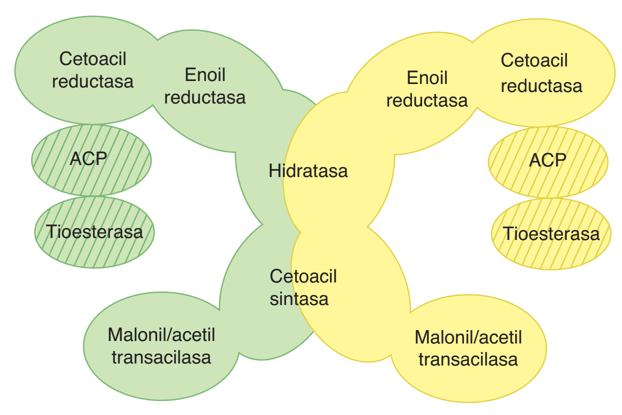
El bicarbonato como una fuente de CO_2 se necesita en la reacción inicial para la carboxilación de la acetil-CoA hacia **malonil-CoA** en presencia de ATP y **acetil-CoA carboxilasa**. Esta última tiene un requerimiento de la vitamina B **biotina** (**figura 23-1**). La enzima es una **proteína multienzimática** que contiene un número variable de subunidades idénticas, cada una de las cuales contiene biotina, biotina carboxilasa, proteína acarreadora de carboxilo biotina y transcarboxilasa, así como un sitio alostérico regulador. La reacción tiene lugar en dos pasos: 1) carboxilación de biotina que comprende ATP y 2) transferencia del grupo carboxilo hacia la acetil-CoA para formar malonil-CoA.

El complejo de ácido graso sintasa es un homodímero de dos cadenas polipeptídicas que contienen seis actividades enzimáticas

En mamíferos, las enzimas individuales del sistema de la ácido graso sintasa están enlazadas en un complejo polipeptídico multienzimático que incorpora la **proteína transportadora de acilo (ACP)**, que adopta el papel de la CoA. Contiene la vitamina **ácido pantoténico** en la forma de 4′-fosfopanteteína (figura 44-18). En la estructura primaria de la proteína, los dominios enzimáticos están enlazados en la secuencia que se muestra en la **figura 23-2**. Sin embargo, la cristalografía de rayos X de la estructura tridimensional ha mostrado que el complejo es un homodímero, con dos subunidades idénticas, cada una de las cuales contiene seis enzimas y una ACP, dispuestas en forma de X (figura 23-2). La posición de la ACP y de los dominios tioesterasa todavía no puede resolverse mediante cristalografía de rayos X, posiblemente porque son demasiado flexibles, pero se cree que yacen cerca de la enzima 3-cetoacilreductasa. El uso



Secuencia de dominios enzimáticos en la estructura primaria de monómero de ácido graso sintasa



Homodímero de ácido graso sintasa

FIGURA 23–2 Complejo multienzimático de la ácido graso sintasa. El complejo es un dímero de dos monómeros polipeptídicos idénticos en los cuales seis enzimas y la proteína transportadora de acilo (ACP) están enlazadas en la estructura primaria en la secuencia que se muestra. La cristalografía de rayos X de la estructura tridimensional ha demostrado que los dos monómeros en el complejo están dispuestos en forma de X. La posición de la ACP y de la tioesterasa aún no se resuelve, pero se cree que está cerca del dominio de la enzima 3 cetoacilreductasa.

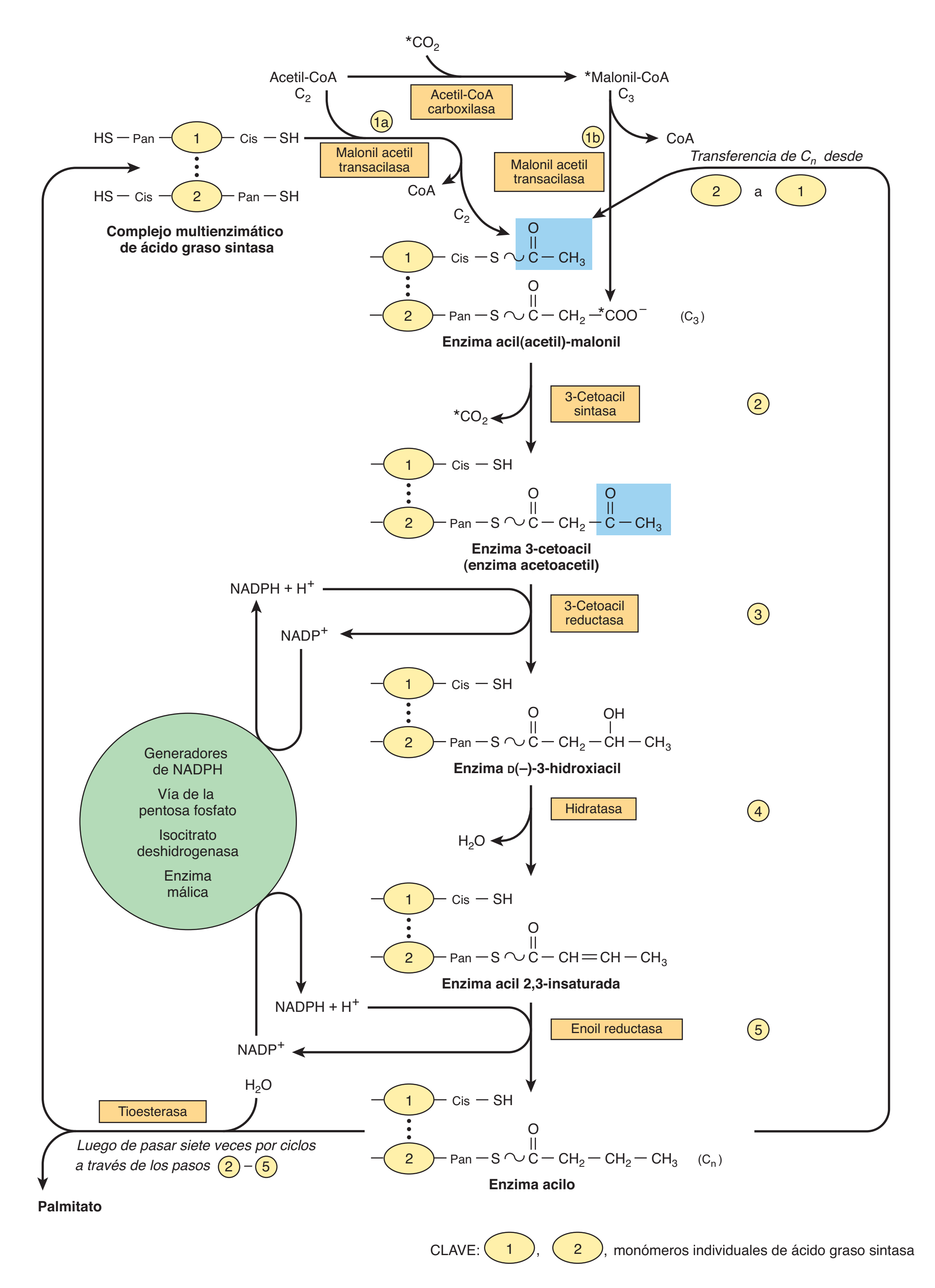


FIGURA 23–3 Biosíntesis de ácidos grasos de cadena larga. Detalles de cómo la adición de un residuo malonilo hace que la cadena acilo crezca por dos átomos de carbono. (Cis, residuo cisteína; Pan, 4′-fosfopanteteína.) Los bloques resaltados en azul contienen en un inicio una unidad C_2 derivada de acetil-CoA (según se ilustra) y después la unidad C_n formada en la reacción 5.

de una unidad funcional de múltiples enzimas plantea las ventajas de lograr el efecto de compartimentación del proceso dentro de la célula sin erigir barreras de permeabilidad y la síntesis de todas las enzimas en el complejo está coordinada, dado que un solo gen la codifica.

Inicialmente, una molécula cebadora de acetil-CoA se combina con un grupo —SH cisteína (**figura 23-3**, reacción 1a), mientras que la malonil-CoA se combina con el —SH adyacente en la 4′-fosfopanteteína de la ACP del otro monómero (reacción 1b). Estas reacciones son catalizadas por la **malonil** acetil **transacilasa**, para formar la **enzima acetil (acil)-malonil**. El grupo acetilo ataca al grupo metileno del residuo malonilo, lo cual es catalizado por la **3-cetoacil sintasa**, y libera CO_2; esto forma enzima 3-cetoacil (enzima acetoacetil) (reacción 2) y libera el grupo —SH de la cisteína. La descarboxilación permite que la reacción avance hasta que se completa, lo que impulsa toda la secuencia de reacciones en dirección anterógrada. El grupo 3-cetoacilo se reduce, deshidrata y reduce de nuevo (reacciones 3-5) para formar la acil-S-enzima saturada correspondiente. Una nueva molécula de malonil-CoA se combina con el —SH de la 4′-fosfopanteteína, lo que desplaza el residuo acilo saturado sobre el grupo —SH de cisteína libre. La secuencia de reacciones se repite seis veces más hasta que se ha montado un radical acilo de 16 carbonos saturado (palmitoil). Se libera del complejo enzimático mediante la actividad de la sexta enzima en el complejo, la **tioesterasa** (desacilasa). Es necesario que el palmitato libre se active hacia acil-CoA antes de que pueda proceder por medio de cualquier otra vía metabólica. Sus posibles destinos son la esterificación hacia acilgliceroles, alargamiento o desaturación de cadena, o esterificación hacia colesteril éster. En la glándula mamaria, hay una tioesterasa separada específica para residuos acilo de C_8, C_{10} o C_{12}, que después se encuentra en los lípidos de la leche.

La ecuación para la síntesis general de palmitato a partir de acetil-CoA y malonil-CoA es:

$$\begin{aligned}&CH_3CO{-}S{-}CoA + 7HOOCCHCO{-}S{-}CoA + 14NADPH + 14H^+\\&\rightarrow\ CH_3(CH_2)_{14}COOH + 7CO_2 + 6H_2O + 8CoA{-}SH + 14NADP^+\end{aligned}$$

La acetil-CoA que se usa como un preparador forma los átomos de carbono 15 y 16 del palmitato. La adición de todas las unidades C_2 subsiguientes se efectúa mediante la malonil-CoA. La propionil-CoA actúa como un preparador para la síntesis de ácidos grasos de cadena larga que tienen un número impar de átomos de carbono, que se encuentran sobre todo en la grasa y la leche de rumiantes.

La principal fuente de NADPH para la lipogénesis es la vía de la pentosa fosfato

El NADPH está involucrado como donador de equivalentes reductores en la reducción de derivados tanto 3-cetoacilo como de 2,3-acilo insaturado (figura 23-3, reacciones 3 y 5). Las reacciones oxidativas de la vía de la pentosa fosfato (cap. 21) son la principal fuente del hidrógeno necesario para la síntesis reductiva de ácidos grasos. Es importante el hecho de que los tejidos especializados en la lipogénesis activa —es decir, el hígado, el tejido adiposo y la glándula mamaria en lactación— también poseen una vía de pentosa fosfato activa. Además, ambas vías metabólicas se encuentran en el citosol de la célula; así, no hay membranas o barreras de permeabilidad contra la transferencia de NADPH. Otras fuentes de este último comprenden la reacción que convierte malato en piruvato catalizada por la **"enzima málica"** (NADP malato deshidrogenasa) (**figura 23-4**) y la reacción de **isocitrato deshidrogenasa** extramitocondrial (que quizá no es una fuente considerable, excepto en rumiantes).

La acetil-CoA es el principal bloque de construcción de ácidos grasos

La acetil-CoA se forma a partir de la glucosa por medio de la oxidación de piruvato dentro de las mitocondrias. Con todo, no se difunde con facilidad hacia el citosol extramitocondrial, el principal sitio de síntesis de ácidos grasos. El citrato, que se forma luego de condensación de acetil-CoA con oxaloacetato en el ciclo del ácido cítrico dentro de las mitocondrias, se transloca hacia el compartimiento extramitocondrial mediante el transportador de tricarboxilato, donde en presencia de CoA y ATP, se divide hacia acetil-CoA y oxaloacetato, catalizado por la **ATP-citrato liasa**, que aumenta de actividad en el estado bien alimentado. La acetil-CoA entonces queda disponible para la formación y síntesis de malonil-CoA para palmitato (figura 23-4). El oxaloacetato resultante puede formar malato por medio de la malato deshidrogenasa enlazada a NADH, lo cual va seguido por la generación de NADPH mediante la enzima málica. El NADPH queda disponible para lipogénesis, y el piruvato puede usarse para regenerar acetil-CoA después de transporte hacia la mitocondria. Esta vía es un medio de transferir equivalentes reductores desde NADH hacia NADP extramitocondriales. De modo alternativo, el malato mismo puede transportarse hacia la mitocondria, donde tiene la capacidad para volver a formar oxaloacetato. Note que el transportador de citrato (tricarboxilato) en la membrana mitocondrial requiere malato para intercambio con citrato (figura 13-10). Hay poca ATP-citrato liasa o enzima málica en rumiantes, probablemente porque en estas especies el acetato (derivado de la digestión de carbohidratos en el rumen, y activado hacia acetil-CoA fuera de la mitocondria) es la principal fuente de acetil-CoA.

La elongación de cadenas de ácido graso sucede en el retículo endoplásmico

Esta vía (el **"sistema microsómico"**) alarga dos carbonos acil-CoA grasas saturadas e insaturadas (desde C_{10} en adelante), usando malonil-CoA como el donador de acetilo, y NADPH como el reductor, y es catalizada por el sistema de enzimas de **ácido graso elongasa** microsómico (**figura 23-5**). La elongación de estearil-CoA en el cerebro se incrementa con rapidez durante la mielinización con el fin de proporcionar ácidos grasos C_{22} y C_{24} para esfingolípidos.

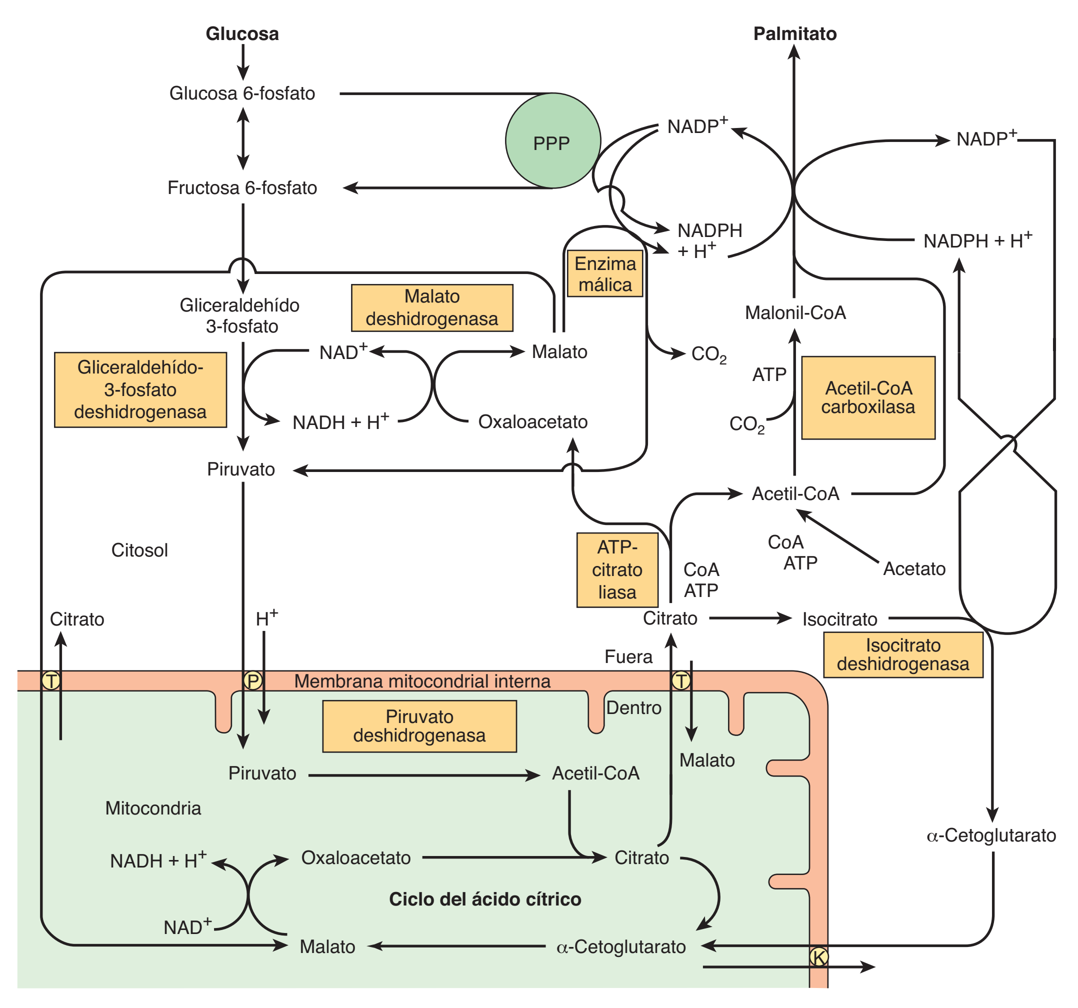


FIGURA 23–4 El suministro de acetil-CoA y NADPH para la lipogénesis. (PPP, vía de la pentosa fosfato; T, transportador de tricarboxilato; K, transportador de α-cetoglutarato; P, transportador de piruvato.)

EL ESTADO NUTRICIONAL REGULA LA LIPOGÉNESIS

El carbohidrato excesivo se almacena como grasa en muchos animales en anticipación de periodos de deficiencia calórica, como inanición, hibernación, etc., y para proporcionar energía para uso entre las comidas en animales, incluso seres humanos, que toman sus alimentos a intervalos espaciados. La lipogénesis convierte la glucosa excedente e intermediarios como piruvato, lactato y acetil-CoA, en grasa, lo que ayuda a la fase anabólica de este ciclo de alimentación. El estado nutricional del organismo es el principal factor que regula el índice de lipogénesis. De esta manera, el índice es alto en el animal bien alimentado cuya dieta contiene una alta proporción de carbohidratos. Es deprimido por la ingestión calórica restringida, dieta con alto contenido de grasa, o una deficiencia de insulina, como en la diabetes mellitus; este tipo de condiciones muestran vínculo con aumento de las concentraciones de FFA en plasma, y se ha demostrado una relación inversa entre la lipogénesis hepática y la concentración de FFA en el suero. Cuando la alimentación consta de sacarosa en lugar de glucosa hay incremento de la lipogénesis, porque la fructosa evita el paso por el punto de control de fosfofructocinasa en la glucólisis, e inunda la vía lipogénica (figura 21-5).

MECANISMOS A CORTO Y LARGO PLAZOS REGULAN LA LIPOGÉNESIS

La síntesis de ácidos grasos de cadena larga está controlada a corto plazo mediante modificación alostérica y covalente de enzimas, y a largo plazo por cambios de la expresión de gen que rigen los índices de síntesis de enzimas.

La acetil-CoA carboxilasa es la enzima de mayor importancia en la regulación de la lipogénesis

La acetil-CoA carboxilasa es una enzima alostérica y es activada por el **citrato**, cuya concentración aumenta en el estado bien alimentado, y es un indicador de un aporte suficiente de acetil-CoA. El citrato promueve la conversión de la enzima desde un dímero inactivo hacia una forma polimérica activa, con una masa molecular de varios millones. La desactivación es promovida por fosforilación de la enzima y por moléculas de acil-CoA de cadena larga, un ejemplo de inhibición por retroacción negativa por un producto de una reacción **(figura 23-6)**. De este

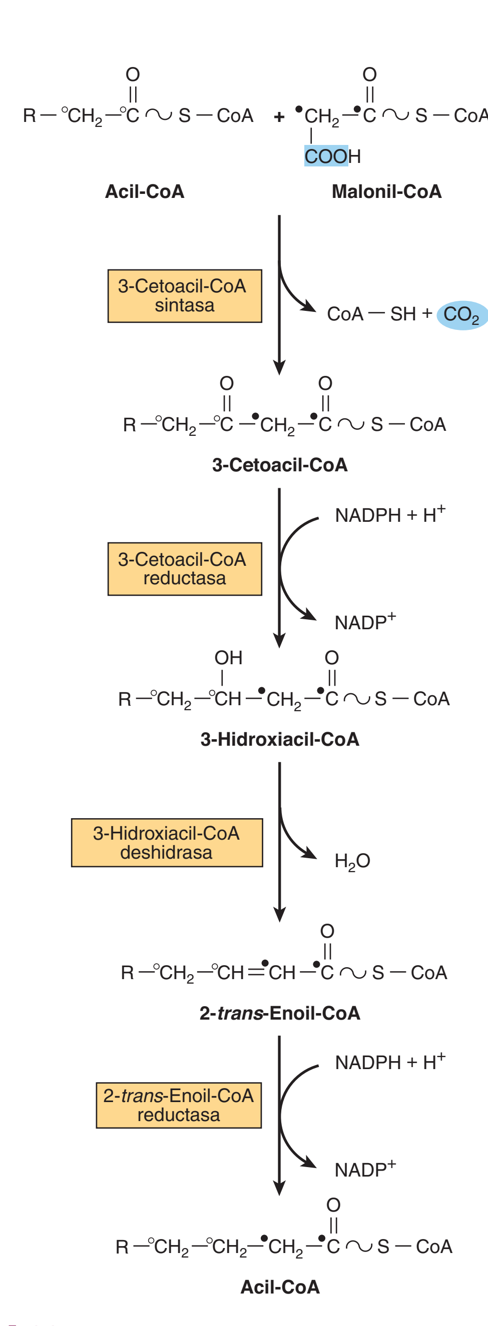


FIGURA 23–5 Sistema de elongasa microsómico para la elongación de cadena de ácido graso. Las reductasas también usan NADH, pero se prefiere NADPH.

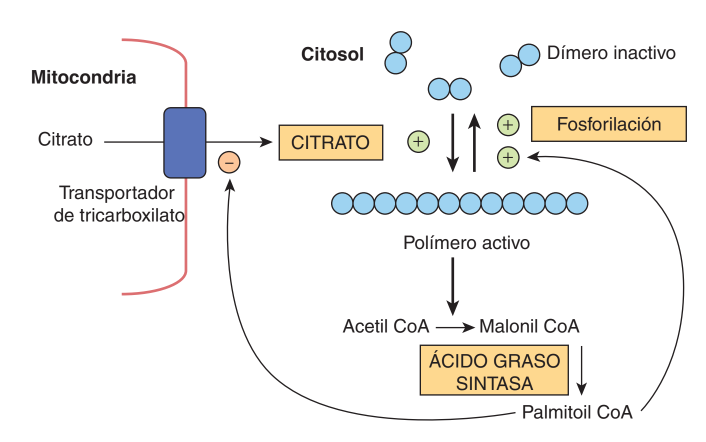


FIGURA 23–6 Regulación de la acetil-CoA carboxilasa. La acetil-CoA carboxilasa es activada por citrato, el cual promueve la conversión de la enzima de un dímero inactivo a una forma polimérica activa. La inactivación es promovida por fosforilación de la enzima y por moléculas de cadena larga acil-CoA como palmitoil CoA. Además, la acil-CoA inhibe el transportador tricarboxilato, el cual transporta el citrato fuera de la mitocondria en el citosol, lo que hace decrecer la concentración de citrato en el citosol y favorece la inactivación de la enzima.

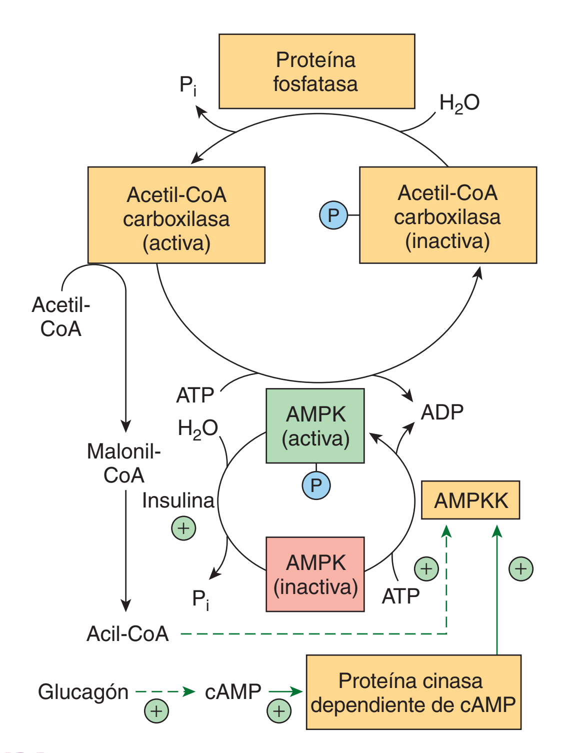


FIGURA 23–7 Regulación de la acetil-CoA carboxilasa por medio de fosforilación/desfosforilación. La enzima es desactivada por fosforilación por la proteína cinasa activada por AMP (AMPK), que a su vez es fosforilada y activada por la proteína cinasa cinasa activada por AMP (AMPKK). El glucagón (y la epinefrina) incrementan el cAMP y, de este modo, activan esta última enzima mediante la proteína cinasa dependiente de cAMP. También se cree que la acil-CoA activa a la enzima cinasa cinasa. La insulina activa a la acetil-CoA carboxilasa por medio de desfosforilación de AMPK.

modo, si se acumula acil-CoA porque no se esterifica con suficiente rapidez, o debido a incremento de la lipólisis o a un flujo de FFA hacia adentro del tejido, reducirá de manera automática la síntesis de ácido graso nuevo. La acil-CoA también inhibe el **transportador de tricarboxilato** mitocondrial, lo que impide la activación de la enzima por egreso de citrato desde la mitocondria hacia el citosol (figura 23-6).

La acetil-CoA carboxilasa también está regulada por hormonas como **glucagón**, **epinefrina** e **insulina** por medio de cambios en su estado de fosforilación (véanse los detalles en la **figura 23-7**).

La piruvato deshidrogenasa también está regulada por la acil-CoA

La acil-CoA da por resultado inhibición de la piruvato deshidrogenasa al inhibir el transportador de intercambio de ATP-ADP de la membrana mitocondrial interna, que conduce a aumento de las proporciones (ATP)/(ADP) intramitocondriales y, en consecuencia, a conversión de piruvato deshidrogenasa activa en inactiva (figura 18-6), lo que regula la disponibilidad de acetil-CoA para lipogénesis. Más aún, la oxidación de acil-CoA debido a incremento de las concentraciones de FFA puede aumentar las proporciones de (acetil-CoA)/(CoA) y (NADH)/(NAD^+) en las mitocondrias, lo que inhibe la piruvato deshidrogenasa.

La insulina también regula la lipogénesis mediante otros mecanismos

La **insulina** estimula la lipogénesis por medio de varios otros mecanismos, así como al incrementar la actividad de acetil-CoA carboxilasa. Aumenta el transporte de glucosa hacia la célula (p. ej., en el tejido adiposo), lo que incrementa la disponibilidad tanto de piruvato para la síntesis de ácidos grasos como de glicerol 3-fosfato para la esterificación de los ácidos grasos recién formados, y convierte también la forma inactiva de la piruvato deshidrogenasa en la forma activa en el tejido adiposo, no así en el hígado. Asimismo, la insulina —mediante su capacidad para deprimir la concentración de cAMP intracelular— **inhibe la lipólisis** en el tejido adiposo y reduce la concentración de FFA y, por ende, de acil-CoA de cadena larga en el plasma, que son inhibidores de la lipogénesis.

El complejo de ácido graso sintasa y acetil-CoA carboxilasa son enzimas adaptativas

Estas enzimas se adaptan a las necesidades fisiológicas del cuerpo al aumentar de cantidad total en el estado posprandial y al disminuir durante la ingestión de una dieta con alto contenido de grasa y en situaciones como inanición y diabetes mellitus. La **insulina** es una importante hormona que origina expresión de gen e inducción de biosíntesis de enzimas, en tanto que el **glucagón** (por medio del cAMP) antagoniza este efecto. La ingestión de grasas que contienen ácidos grasos poliinsaturados regula de modo coordinado la inhibición de la expresión de enzimas clave de la glucólisis y la lipogénesis. Estos mecanismos para la regulación a plazo más largo de la lipogénesis tardan varios días en manifestarse por completo, e incrementan el efecto directo e inmediato de los FFA y de hormonas como insulina y glucagón.

ALGUNOS ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS NO PUEDEN SINTETIZARSE EN MAMÍFEROS Y SON ESENCIALES DESDE EL PUNTO DE VISTA NUTRICIONAL

La **figura 23-8** muestra ciertos ácidos grasos insaturados de cadena larga de importancia metabólica en mamíferos. Otros ácidos grasos polienoicos C_{20}, C_{22} y C_{24} se derivan de los ácidos oleico, linoleico y α-linolénico mediante alargamiento de cadena. Los ácidos palmitoleico y oleico no son esenciales en la dieta porque los tejidos pueden introducir un doble enlace en la posición Δ^9 de un ácido graso saturado. Los **ácidos linoleico** y **α-linolénico** son los únicos ácidos grasos que se sabe que son esenciales para la nutrición completa de muchas especies de animales, incluso seres humanos, y se conocen como los **ácidos grasos esenciales en el aspecto nutricional**. En casi todos los mamíferos, el **ácido araquidónico** puede formarse a partir de ácido linoleico (figura 23-11). Pueden introducirse dobles enlaces en las posiciones Δ^4, Δ^5, Δ^6 y Δ^9 (cap. 15) en la mayoría de los animales, pero nunca más allá de la posición Δ^9. En contraste, los vegetales tienen la capacidad para sintetizar los ácidos grasos esenciales desde el punto de vista nutricional al introducir dobles enlaces en las posiciones Δ^{12} y Δ^{15}.

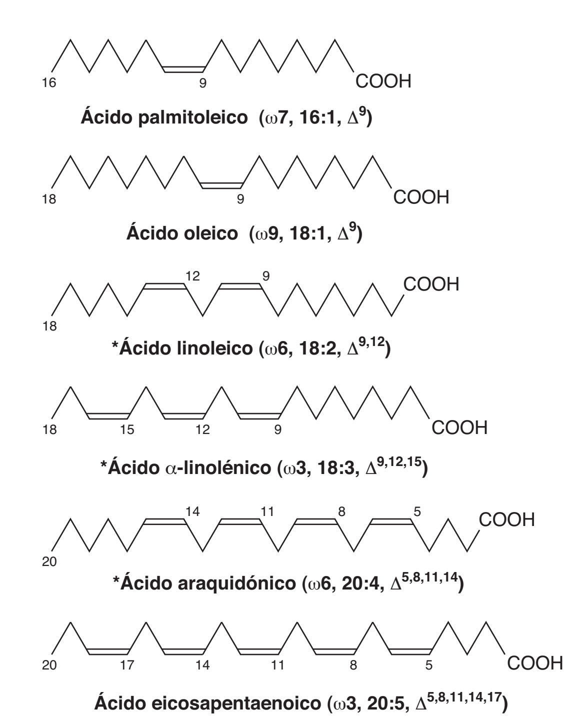


FIGURA 23–8 Estructura de algunos ácidos grasos insaturados. Si bien los átomos de carbono en las moléculas están numerados de manera convencional —desde el carboxilo terminal—, los números ω (p. ej., ω7 en el ácido palmitoleico) se calculan desde el extremo inverso (el metilo terminal) de las moléculas. La información entre paréntesis muestra, por ejemplo, que el ácido α-linolénico contiene dobles enlaces empezando en el tercer carbono desde el metilo terminal, tiene 18 carbonos y 3 dobles enlaces, y tiene estos dobles enlaces en los carbonos noveno, duodécimo y décimo quinto desde el carboxilo terminal. (*Clasificados como "ácidos grasos esenciales".)

LOS ÁCIDOS GRASOS MONOINSATURADOS SE SINTETIZAN POR MEDIO DE UN SISTEMA DE Δ^9 DESATURASA

Varios tejidos, entre ellos el hígado, se encargan de la formación de ácidos grasos monoinsaturados no esenciales a partir de ácidos grasos saturados. En un ácido graso saturado el primer doble enlace casi siempre se introduce en la posición Δ^9. Un sistema

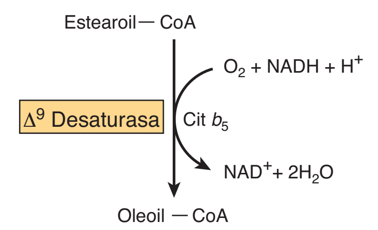


FIGURA 23–9 **Δ^9 Desaturasa microsómica.**

de enzima —**Δ^9 desaturasa (figura 23-9)**— en el retículo endoplásmico cataliza la conversión de palmitoil-CoA o estearoil-CoA en palmitoleoil-CoA u oleoil-CoA, respectivamente. Se necesitan oxígeno y NADH o NADPH para la reacción. Las enzimas parecen ser similares a un sistema de monooxigenasa que incluye el citocromo b_5 (cap. 12).

LA SÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS COMPRENDE SISTEMAS DE ENZIMAS DE DESATURASA Y ELONGASA

Los dobles enlaces adicionales introducidos en ácidos grasos monoinsaturados existentes siempre están separados entre sí por un grupo metileno (están interrumpidos por metileno) salvo en bacterias. Puesto que los animales tienen una Δ^9 desaturasa, tienen capacidad de sintetizar la familia de ácidos grasos insaturados ω9 (ácido oleico) por completo mediante una combinación de alargamiento y desaturación de cadena (**figura 23-10**). Aun así, como se mencionó, los ácidos linoleico (ω6) o α-linolénico (ω3) necesarios para la síntesis de los otros miembros de las familias ω6 u ω3 deben obtenerse a partir de la dieta. El linoleato se convierte en araquidonato por medio del **γ-linolenato** mediante la vía que se muestra en la **figura 23-11**. Así, el requerimiento nutricional de araquidonato puede surtirse si hay linoleato adecuado en la dieta. Hay un gran decremento del sistema de desaturación y alargamiento de cadena en estado de inanición como respuesta a administración de glucagón y epinefrina, y en ausencia de insulina, como en la diabetes tipo 1.

SE PRODUCEN SÍNTOMAS DE DEFICIENCIA CUANDO HAY CARENCIA DE ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES EN LA DIETA

Las ratas alimentadas con una dieta sin lípidos purificada, que contiene vitaminas A y D, muestran índice de crecimiento reducido, y deficiencia reproductiva, los cuales pueden curarse al añadir **ácidos linoleico, α-linolénico** y **araquidónico** a la dieta; dichos ácidos grasos se encuentran en concentraciones altas en aceites vegetales (cuadro 15-2) y en pequeñas cantidades en cadáveres de animales. Los ácidos grasos esenciales son indispensables para la formación de prostaglandina, tromboxano, leucotrieno y lipoxina (véase más adelante), y tienen varias otras funciones menos bien definidas. Se encuentran en los lípidos estructurales de la célula, a menudo en la posición 2 de fosfolípidos y están relacionados con la integridad estructural de la membrana mitocondrial.

El ácido araquidónico está presente en membranas y explica 5 a 15% de los ácidos grasos en fosfolípidos. El ácido docosahexaenoico (DHA; ω3, 22:6), que se sintetiza en un grado limitado a partir del ácido α-linolénico, o que se obtiene de manera directa a partir de aceites de pescado, está presente en concentraciones altas en la retina, la corteza cerebral, los testículos y el semen. El DHA es en particular necesario para el desarrollo del cerebro y la retina, y se proporciona mediante la placenta y la leche. Se informa que los pacientes con **retinitis pigmentosa** tienen concentraciones bajas de DHA. En la **deficiencia de ácidos grasos esenciales**, los ácidos polienoicos no esenciales de la familia ω9, en particular ácido $\Delta^{5,8,11}$-eicosatrienoico (ω9 20:3) (figura 23-10), remplazan a los ácidos grasos esenciales en fosfolípidos, otros lípidos complejos, y membranas. Es posible emplear la proporción trieno:tetraeno en lípidos plasmáticos para diagnosticar la magnitud de la deficiencia de ácidos grasos esenciales.

Los ácidos grasos *trans* están implicados en diversos trastornos

Pequeñas cantidades de ácidos grasos *trans*-insaturados se encuentran en la grasa de rumiante (p. ej., la grasa de la mantequilla tiene 2 a 7%), donde surgen a partir de la acción de

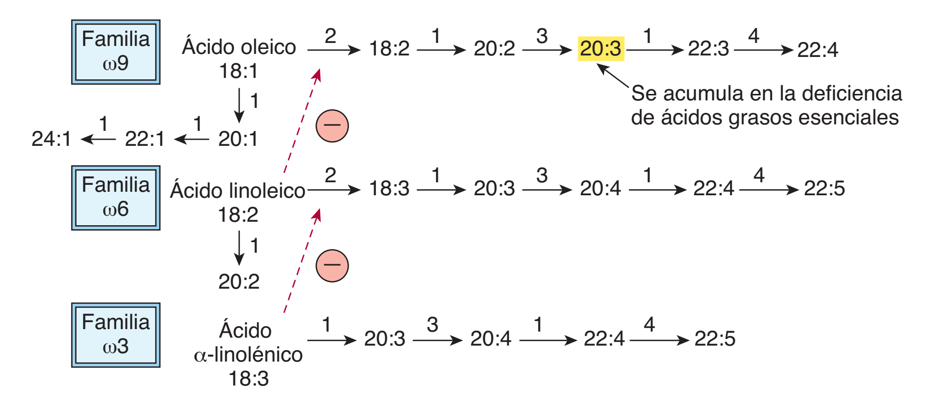


FIGURA 23–10 **Biosíntesis de las familias ω9, ω6 y ω3 de ácidos grasos poliinsaturados.** Cada paso es catalizado por el sistema de alargamiento de cadena microsómico o de desaturasa: 1, elongasa; 2, Δ^6 desaturasa; 3, Δ^5 desaturasa; 4, Δ^4 desaturasa. (⊖, inhibición.)

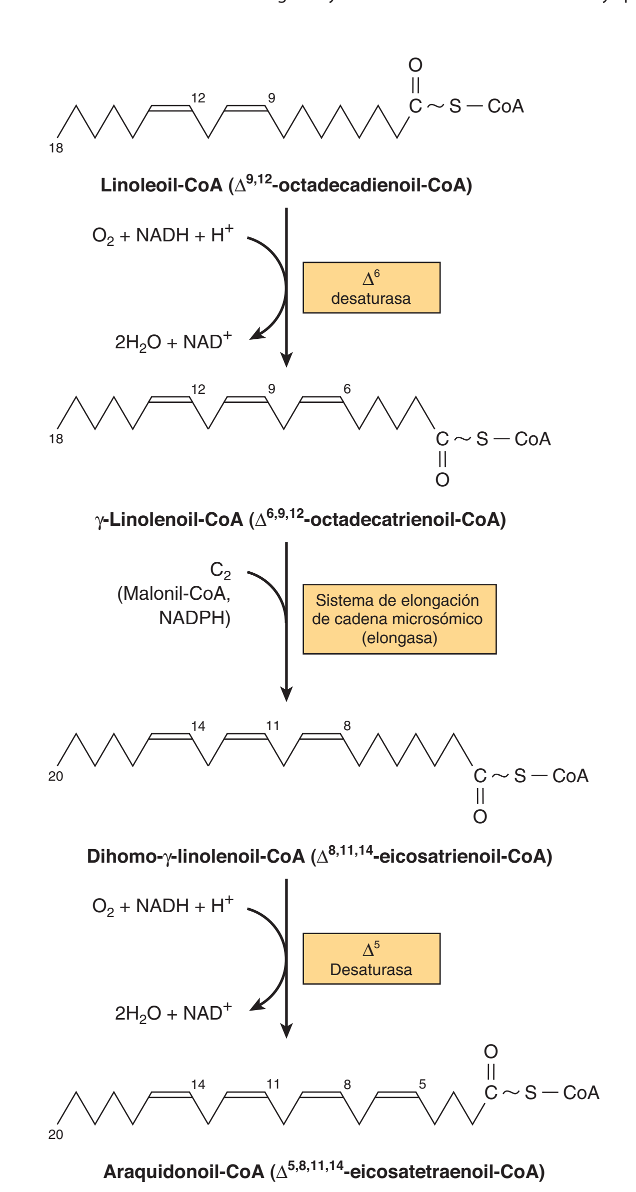


FIGURA 23–11 Conversión de linoleato en araquidonato. Los gatos no pueden efectuar esta conversión debido a la falta de Δ^6 desaturasa y deben obtener el araquidonato en la dieta.

microorganismos en el rumen, pero la principal fuente en la dieta de ser humano son los aceites vegetales parcialmente hidrogenados (p. ej., margarina). Los ácidos grasos *trans* compiten con los ácidos grasos esenciales y pueden exacerbar la deficiencia de éstos. Además, son similares en el aspecto estructural a los ácidos grasos saturados (cap. 15), y tienen efectos comparables en la promoción de hipercolesterolemia y aterosclerosis (cap. 26).

LOS EICOSANOIDES SE FORMAN A PARTIR DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS C_{20}

El araquidonato y algunos otros ácidos grasos poliinsaturados C_{20} dan lugar a **eicosanoides**, compuestos que tienen actividad fisiológica y farmacológica conocidos como **prostaglandinas (PG)**, **tromboxanos (TX)**, **leucotrienos (LT)** y **lipoxinas (LX)** (cap. 15). Desde el punto de vista fisiológico, se considera que actúan como hormonas locales que funcionan por medio de receptores enlazados a proteína G para desencadenar sus efectos bioquímicos.

Hay tres grupos de eicosanoides que se sintetizan a partir de ácidos eicosanoicos C_{20} derivados de los ácidos grasos esenciales **linoleato** y **α-linolenato**, o de modo directo a partir del araquidonato y eicosapentaenoato de la dieta (**figura 23-12**). El araquidonato, que puede obtenerse a partir de la dieta, pero que por lo general se deriva de la posición 2 de fosfolípidos en la membrana plasmática mediante la acción de la fosfolipasa A_2 (figura 24-6), es el sustrato para la síntesis de PG_2, serie TX_2 **(prostanoides)** por medio de la **vía de la ciclooxigenasa**, o las series LT_4 y LX_4 mediante la **vía de la lipooxigenasa**; las dos vías compiten por el sustrato araquidonato (figura 23-11).

LA VÍA DE LA CICLOOXIGENASA (COX) SE ENCARGA DE LA SÍNTESIS DE PROSTANOIDES

La síntesis de prostanoides (**figura 23-13**) involucra el consumo de dos moléculas de O_2 catalizado por la COX (también llamada **prostaglandina H sintasa**), una enzima que tiene dos actividades, una **ciclooxigenasa** y **peroxidasa**. La COX está presente como dos isoenzimas, **COX-1** y **COX-2.** El producto, un endoperóxido (PGH), se convierte en prostaglandinas D y E, así como en un tromboxano (TXA_2) y prostaciclina (PGI_2). Cada tipo de célula sólo produce un tipo de prostanoide. El AINE **ácido acetilsalicílico** inhibe a la COX-1 y COX-2; otros AINE son la **indometacina** y el **ibuprofeno**, y por lo regular inhiben COX al competir con el araquidonato. Dado que la inhibición de la COX-1 causa la irritación del estómago que a menudo muestra vínculo con la ingestión de AINE, se ha intentado crear fármacos que inhiben de manera selectiva a la COX-2 **(coxibs)**. Comoquiera que sea, por desgracia el éxito de este método ha sido limitado y algunos coxibs se han retirado o suspendido del mercado debido a efectos secundarios indeseables y aspectos de seguridad. La transcripción de la COX-2 —no así de la COX-1— es inhibida por completo por los **corticosteroides antiinflamatorios**.

Los ácidos grasos esenciales no ejercen todos sus efectos fisiológicos por medio de la síntesis de PG

La función de los ácidos grasos esenciales en la formación de membrana no se relaciona con la formación de PG. Las PG no alivian síntomas de deficiencia de ácidos grasos esenciales, y la inhibición de la síntesis de PG no suscita una deficiencia de ese tipo.

La COX es una “enzima suicida”

La “desactivación” de la actividad de PG se logra en parte mediante una propiedad notoria de la COX: la de destrucción autocatalizada; esto es, es una **“enzima suicida”**. Más aún, la

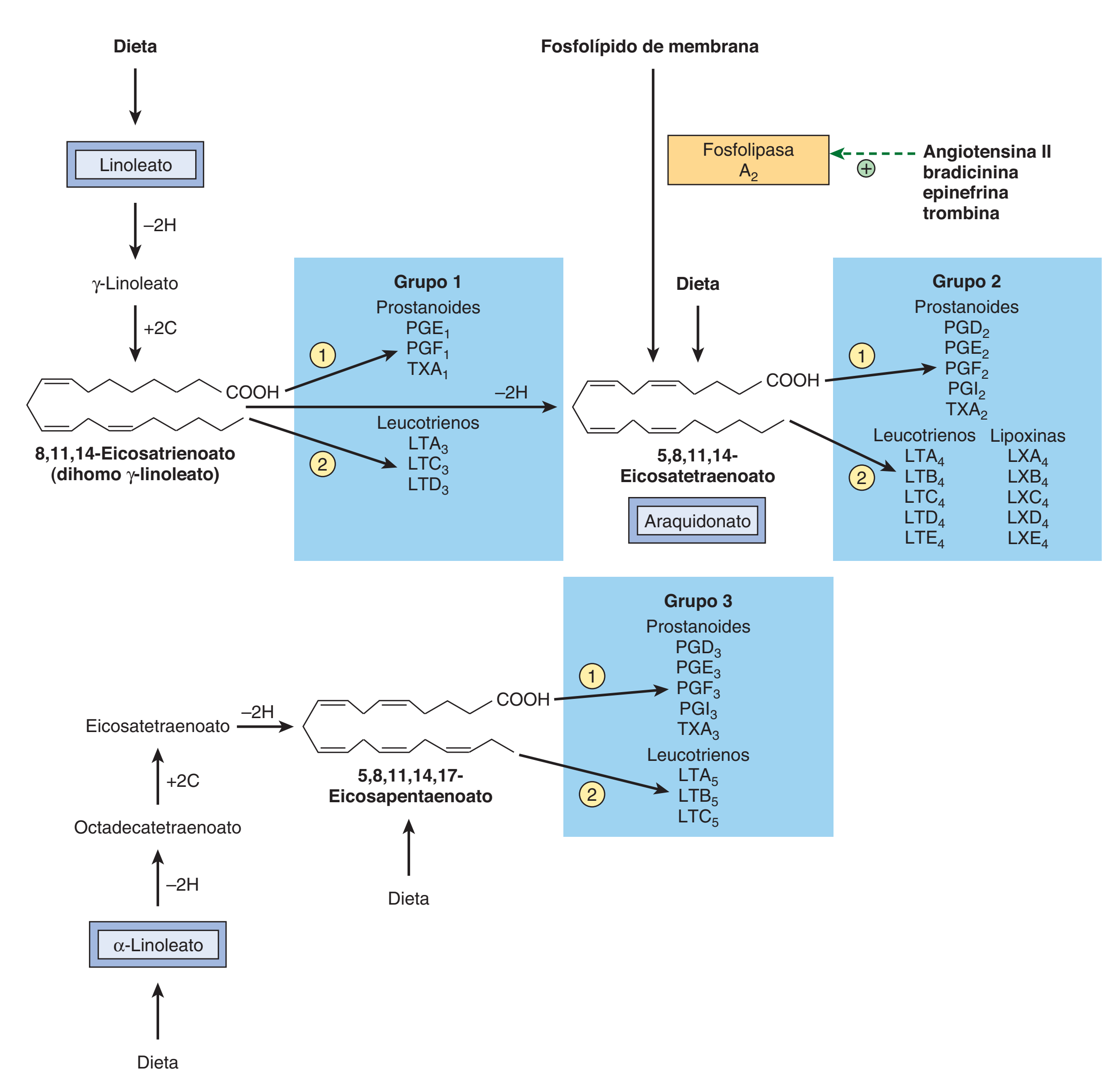


FIGURA 23–12 **Los tres grupos de eicosanoides y sus orígenes biosintéticos.** (PG, prostaglandina; PGI, prostaciclina; TX, tromboxano; LT, leucotrieno; LX, lipoxina; ①, vía de la ciclooxigenasa; ②, vía de la lipooxigenasa.) El número en subíndice denota el número total de dobles enlaces en la molécula y la serie a la cual pertenece el compuesto.

desactivación de PG por la **15-hidroxiprostaglandina deshidrogenasa** es rápida. El bloqueo de la acción de esta enzima con sulfasalazina o indometacina puede prolongar la vida media de las PG en el cuerpo.

LOS LEUCOTRIENOS Y LAS LIPOXINAS SE FORMAN POR MEDIO DE LA VÍA DE LA LIPOOXIGENASA

Los **leucotrienos** son una familia de trienos conjugados que se forman a partir de ácidos eicosanoicos en leucocitos, células de mastocitoma, plaquetas y macrófagos mediante la **vía de la lipooxigenasa** en respuesta a estímulos inmunitarios y no inmunitarios. Tres diferentes lipooxigenasas (dioxigenasas) insertan oxígeno en las posiciones 5, 12 y 15 del ácido araquidónico, lo que da lugar a hidroperóxidos (HPETE). Sólo la **5-lipooxigenasa** forma leucotrienos (véanse los detalles en la **figura 23-14**).

Las **lipoxinas** son una familia de tetraenos conjugados que también surgen en leucocitos. Se forman por medio de la acción combinada de más de una lipooxigenasa (figura 23-14).

ASPECTOS CLÍNICOS

Los síntomas de deficiencia de ácidos grasos esenciales en seres humanos comprenden lesiones en la piel y deterioro del transporte de lípidos

En adultos que subsisten con dietas ordinarias, no se han informado signos de deficiencias de ácidos grasos esenciales. De cualquier modo, los lactantes que reciben dietas con leche artificial con bajo contenido de grasa, y los enfermos que se mantienen durante periodos prolongados de modo exclusivo mediante nutrición por vía intravenosa con bajo contenido de ácidos grasos esenciales muestran síntomas de deficiencia que pueden

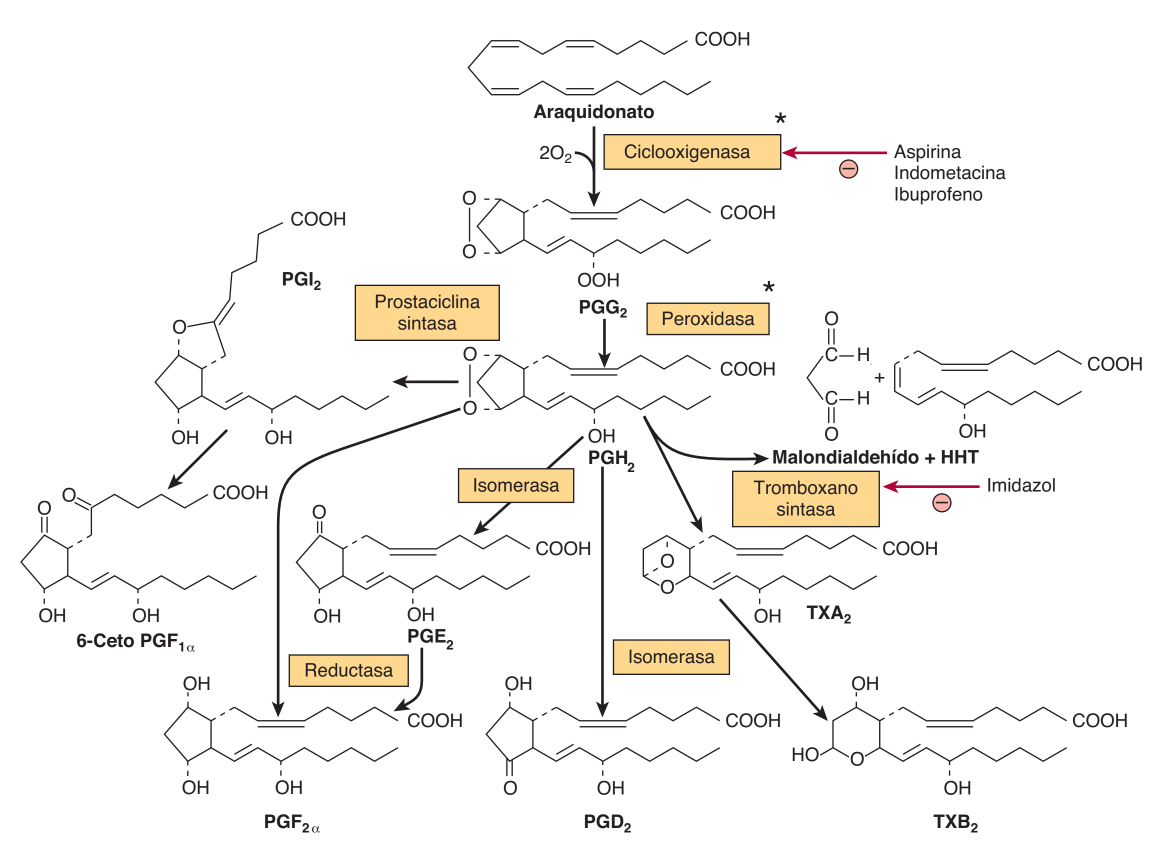


FIGURA 23–13 Conversión del ácido araquidónico en prostaglandinas y tromboxanos de la serie 2. (PG, prostaglandina; TX, tromboxano; PGI, prostaciclina; HHT, hidroxiheptadecatrienoato). (*Estas dos actividades marcadas con asterisco se atribuyen a la enzima ciclooxigenasa [prostaglandina H sintasa]. Suceden conversiones similares en las prostaglandinas y los tromboxanos de las series 1 y 3.)

prevenirse por medio de una ingestión de ácidos grasos esenciales de 1 a 2% del requerimiento calórico total.

En varias enfermedades ocurre metabolismo anormal de ácidos grasos esenciales

El metabolismo anormal de los ácidos grasos esenciales, que puede estar vinculado con insuficiencia en la dieta, se ha notado en la fibrosis quística, la acrodermatitis enteropática, el síndrome hepatorrenal, síndrome de Sjögren-Larsson, degeneración neonatal de múltiples sistemas, enfermedad de Crohn, cirrosis y alcoholismo, y síndrome de Reye. Se han encontrado concentraciones altas de ácidos polienoicos de cadena muy larga en el cerebro de individuos con síndrome de Zellweger (cap. 22). Las dietas con una proporción P:S (ácido graso poliinsaturado:saturado) alta reducen las concentraciones séricas de colesterol, y se considera que son beneficiosas en cuanto al riesgo de aparición de cardiopatía coronaria.

Los prostanoides son sustancias potentes que tienen actividad biológica

Los **tromboxanos** se sintetizan en plaquetas y en el momento de su liberación producen vasoconstricción y agregación plaquetaria. El ácido acetilsalicílico en dosis bajas inhibe su síntesis de manera específica. Las **prostaciclinas** (**PGI_2**) se producen en las paredes de los vasos sanguíneos y son potentes inhibidores de la agregación plaquetaria. De este modo, los tromboxanos y las prostaciclinas son antagonistas. La PG_3 y el TX_3, que se forman a partir del ácido eicosapentaenoico (EPA), inhiben la liberación de araquidonato a partir de fosfolípidos, y la formación de PG_2 y TX_2. La PGI_3 es un antiagregador de plaquetas tan potente como la PGI_2, pero el TXA_3 es un agregador más débil que el TXA_2, lo que modifica el equilibrio de actividad y favorece tiempos de coagulación más prolongados. Una cantidad de PG plasmáticas tan pequeña como 1 ng/ml ocasiona contracción del músculo liso en animales. Los usos terapéuticos potenciales incluyen prevención de la concepción, inhibición del trabajo de parto al término, terminación del embarazo, prevención de úlceras gástricas o alivio de las mismas, y control de la inflamación y de la presión arterial, y alivio del asma y de la congestión nasal. Además, la PGD_2 es una potente sustancia que promueve el sueño. Las prostaglandinas aumentan el cAMP en las plaquetas, el tiroides, el cuerpo amarillo, hueso fetal, adenohipófisis y pulmones, pero lo reducen en las células de los túbulos renales y en el tejido adiposo (cap. 25).

Los leucotrienos y las lipoxinas son potentes reguladores de muchos procesos morbosos

La sustancia de reacción lenta de anafilaxia **(SRS-A)** es una mezcla de leucotrienos C_4, D_4 y E_4, la cual es un potente cons-

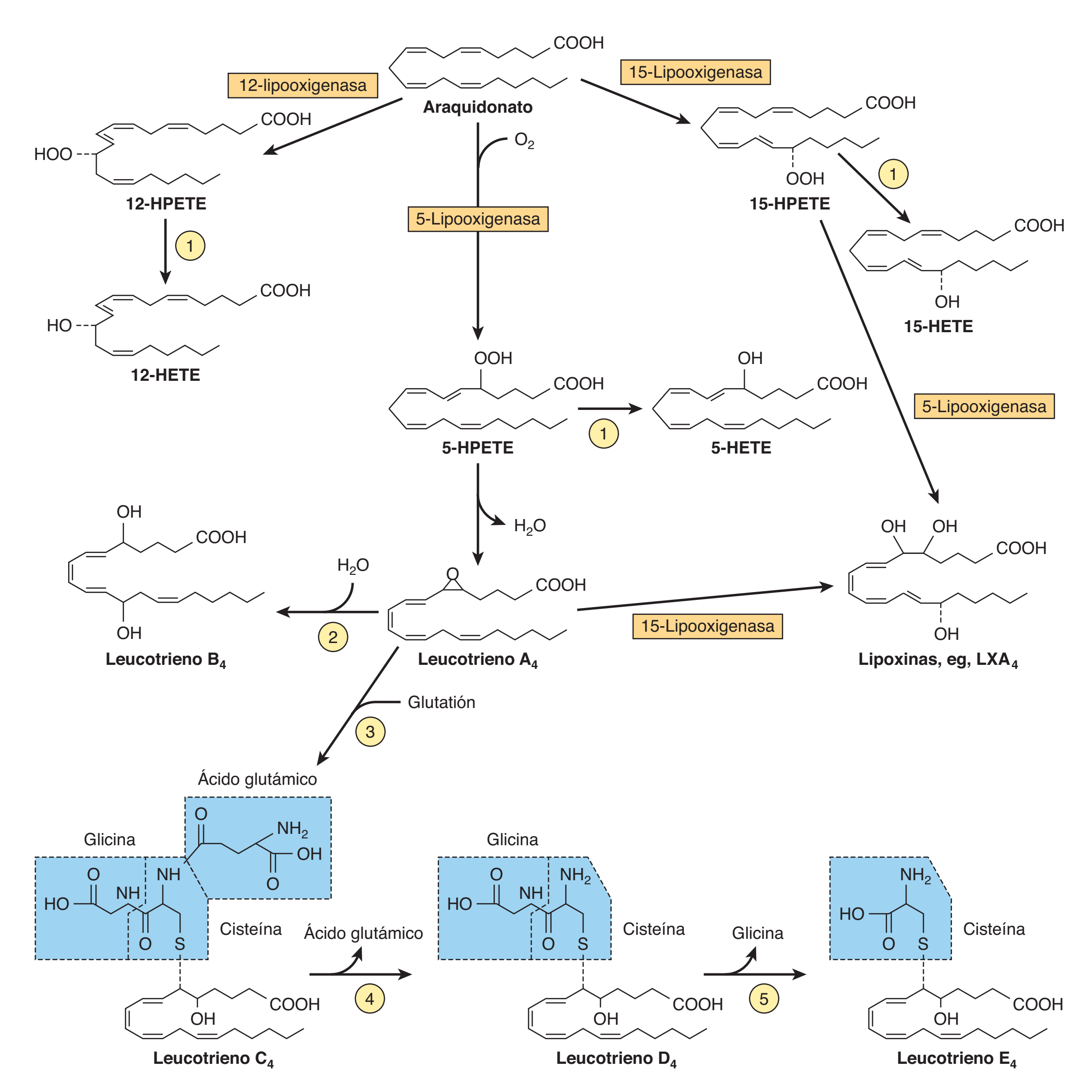


FIGURA 23–14 Conversión del ácido araquidónico en leucotrienos y lipoxinas de la serie 4 mediante la vía de la lipooxigenasa. Ocurren algunas conversiones similares en leucotrienos de las series 3 y 5. (HPETE, hidroperoxieicosatetraenoato; HETE, hidroxieicosatetraenoato; ①, peroxidasa; ②, leucotrieno A_4 epóxido hidrolasa; ③, glutatión *S*-transferasa; ④, γ-glutamiltranspeptidasa; ⑤, cisteinil-glicina dipeptidasa.)

trictor de la musculatura de las vías respiratorias bronquiales. Todos ellos, junto con el **leucotrieno B_4**, también dan por resultado permeabilidad vascular y atracción y activación de leucocitos, y son reguladores importantes en muchas enfermedades que comprenden reacciones inflamatorias o de hipersensibilidad inmediata, como el asma. Los leucotrienos son vasoactivos, y se ha hallado 5-lipooxigenasa en las paredes arteriales. La evidencia apoya una función antiinflamatoria para las lipoxinas en la función vasoactiva e inmunorreguladora, por ejemplo, como compuestos contrarreguladores **(chalonas)** de la respuesta inmunitaria.

RESUMEN

- Dos sistemas de enzimas: acetil-CoA carboxilasa y ácido graso sintasa, llevan a cabo la síntesis de ácidos grasos de cadena larga (lipogénesis).
- La vía convierte a la acetil-CoA en palmitato, y necesita NADPH, ATP, Mn^{2+}, biotina y ácido pantoténico como cofactores.
- La acetil-CoA carboxilasa convierte la acetil-CoA en malonil-CoA, y después en ácido graso sintasa, un complejo multienzimático que consta de dos cadenas polipeptídicas idénticas, cada una de las cuales contiene seis actividades enzimáticas separadas y ACP, cataliza la formación de palmitato a partir de una molécula de acetil-CoA y siete de malonil-CoA.
- La lipogénesis está regulada en el paso de la acetil-CoA carboxilasa mediante modificadores alostéricos, fosforilación/desfosforilación, e inducción y represión de la síntesis de enzima. La enzima es activada de manera alostérica por citrato y desactivada por la acil-CoA de cadena larga. La desfosforilación (p. ej., por medio de insulina) promueve su actividad, mientras que la fosforilación (p. ej., por glucagón o epinefrina) es inhibitoria.

- La biosíntesis de ácidos grasos de cadena larga insaturados se logra mediante las enzimas desaturasa y elongasa, los cuales introducen dobles enlaces y alargan las cadenas acilo existentes, respectivamente.
- Los animales superiores tienen Δ^4, Δ^5, Δ^6 y Δ^9 desaturasas, pero no pueden insertar nuevos dobles enlaces más allá de la posición 9 de ácidos grasos. De este modo, es necesario que los ácidos grasos esenciales linoleico (ω6) y α-linolénico (ω3) se obtengan a partir de la dieta.
- Los eicosanoides se derivan de ácidos grasos C_{20} (eicosanoicos) sintetizados a partir de los ácidos grasos esenciales, y constituyen importantes grupos de compuestos que tienen actividad fisiológica y farmacológica, entre ellos las prostaglandinas, los tromboxanos, los leucotrienos y las lipoxinas.

REFERENCIAS

Fischer S: Dietary polyunsaturated fatty acids and eicosanoid formation in humans. Adv Lipid Res 1989;23:169.

Fitzpatrick FA: Cyclooxygenase enzymes: regulation and function. Curr Pharm Des 2004;10:577.

McMahon B, Mitchell S, Brady HR, et al: Lipoxins: revelations on resolution. Trends Pharmacol Sci 2001;22:391.

Miyazaki M, Ntambi JM: Fatty acid desaturation and chain elongation in mammals. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes,* 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008;191–212.

Sith S, Witkowski A, Joshi AK: Structural and functional organisation of the animal fatty acid synthase. Prog Lipid Res 2003;42:289.

Smith WL, Murphy RC: The eicosanoids: cyclooxygenase, lipoxygenase, and epoxygenase pathways. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes,* 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008;331–362.

Sul HS, Smith S: Fatty acid synthesis in eukaryotes. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes,* 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008;155–190.

Tong L: Acetyl-coenzyme A carboxylase: crucial metabolic enzyme and an attractive target for drug discovery. Cell Mol Life Sci 2005;62:1784.

Wijendran V, Hayes KC: Dietary n-6 and n-3 fatty acid balance and cardiovascular health. Annu Rev Nutr 2004;24:597.

Metabolismo de acilgliceroles y esfingolípidos

CAPÍTULO

24

Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Apreciar que el catabolismo de los triacilgliceroles involucra hidrólisis por una lipasa hacia ácidos grasos libres y glicerol, e indicar el destino de estos metabolitos.
- Entender que el glicerol-3-fosfato es el sustrato para la formación tanto de triacilgliceroles como de fosfogliceroles, y que un punto de ramificación en el fosfatidato lleva a la síntesis de fosfolípidos de inositol y cardiolipina por medio de una rama, y triacilgliceroles y otros fosfolípidos por medio de la segunda rama.
- Explicar que los plasmalógenos y el factor activador de plaquetas (PAF) se forman mediante una vía compleja que inicia a partir de la dihidroxiacetona fosfato.
- Ilustrar el papel de diversas fosfolipasas en la degradación de fosfolípidos y el remodelado de los mismos.
- Apreciar que la ceramida se produce a partir del aminoácido serina, y es el precursor a partir del cual se forman todos los esfingolípidos.
- Indicar de qué modo la esfingomielina y los glucoesfingolípidos se producen por la reacción de ceramida con fosfatidilcolina (con la liberación de diacilglicerol) o con residuo(s) de azúcar, respectivamente.
- Identificar ejemplos de procesos morbosos causados por defectos de la síntesis o la desintegración de fosfolípidos o esfingolípidos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los acilgliceroles constituyen la mayor parte de los lípidos en el cuerpo. Los triacilgliceroles son los principales lípidos en depósitos de grasa y en los alimentos, y en capítulos subsiguientes se describirán sus participaciones en el transporte y almacenamiento de lípidos, y en diversas enfermedades como la obesidad, diabetes e hiperlipoproteinemia. La naturaleza anfipática de los fosfolípidos y esfingolípidos hace que sean ideales como el principal componente lípido de las membranas celulares. Asimismo, los fosfolípidos participan en el metabolismo de muchos otros lípidos. Algunos fosfolípidos tienen funciones especializadas; p. ej., la dipalmitoil lecitina es un componente de importancia del **surfactante pulmonar**, que falta en el **síndrome de dificultad respiratoria** del recién nacido. Los fosfolípidos inositol en la membrana celular actúan como precursores de **segundos mensajeros hormonales**, y el **factor activador de plaquetas** es un alquilfosfolípido. Los glucoesfingolípidos, que contienen esfingosina y residuos azúcar, así como ácido graso, se encuentran en la hojuela externa de la membrana plasmática con sus cadenas de oligosacárido mirando hacia afuera, forman parte del glucocálix de la superficie celular, y son importantes: 1) en la adherencia y el reconocimiento celular, 2) como receptores para toxinas bacterianas (p. ej., la toxina que causa el cólera) y 3) como sustancias del grupo sanguíneo ABO. Se han descrito alrededor de una docena de **enfermedades por depósito de glucolípidos** (p. ej., enfermedad de Gaucher, enfermedad de Tay-Sachs), cada una de las cuales se debe a un defecto genético en la vía de la degradación de glucolípidos en los lisosomas.

LA HIDRÓLISIS INICIA EL CATABOLISMO DE LOS TRIACILGLICEROLES

Los triacilgliceroles deben hidrolizarse por medio de una **lipasa** hacia los ácidos grasos y el glicerol que los constituyen, antes de que pueda proceder más catabolismo. Gran parte de esta hidrólisis (lipólisis) ocurre en el tejido adiposo, con liberación de ácidos grasos libres hacia el plasma, donde se encuentran combinados con la albúmina sérica (figura 25-7). Esto va seguido por captación de FFA hacia los tejidos (entre ellos hígado, corazón, riñones, músculo, pulmones, testículos y tejido adiposo,

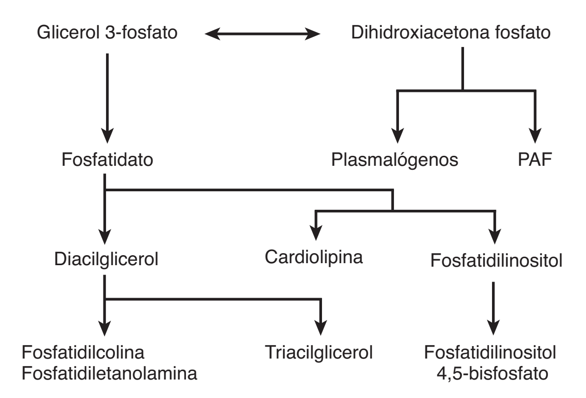


FIGURA 24–1 Perspectiva general de la biosíntesis de acilglicerol. (PAF, factor activador de plaquetas.)

aunque no de manera fácil por el cerebro), donde se oxidan o se reesterifican. La utilización de glicerol depende de si esos tejidos poseen la enzima **glicerol cinasa**, que se encuentra en cantidades importantes en hígado, riñones, intestino, tejido adiposo pardo y glándula mamaria en lactación.

LOS TRIACILGLICEROLES Y LOS FOSFOGLICEROLES SE FORMAN MEDIANTE ACILACIÓN DE TRIOSA FOSFATOS

La **figura 24-1** esboza las principales vías de la biosíntesis de triacilglicerol y fosfoglicerol. Las sustancias importantes, como los triacilgliceroles, la fosfatidilcolina, la fosfatidiletanolamina, el fosfatidilinositol y la cardiolipina, un constituyente de las membranas mitocondriales, se forman a partir del **glicerol-3-fosfato**. Suceden puntos de ramificación importantes en la vía en los pasos de fosfatidato y diacilglicerol. A partir de dihidroxiacetona fosfato se derivan fosfogliceroles que contienen un enlace éter (—C—O—C—); los mejor conocidos entre ellos son los plasmalógenos y el factor activador de plaquetas (PAF). El glicerol 3-fosfato y el dihidroxiacetona fosfato son intermediarios en la glucólisis, y hacen una conexión muy importante entre el metabolismo de carbohidratos y de lípidos (ver cap. 16).

El fosfatidato es el precursor común en la biosíntesis de triacilgliceroles, muchos fosfogliceroles y cardiolipina

Antes de que tanto el glicerol como los ácidos grasos se puedan incorporar hacia acilgliceroles, es necesario que se activen por ATP. La **glicerol cinasa** cataliza la activación de glicerol hacia *sn*-glicerol 3-fosfato. Si la actividad de esta enzima falta o es baja, como en músculo o tejido adiposo, la mayor parte del glicerol 3-fosfato se forma a partir de dihidroxiacetona fosfato por medio de la **glicerol-3-fosfato deshidrogenasa** (**figura 24-2**).

Biosíntesis de triacilgliceroles

Dos moléculas de acil-CoA, formadas por la activación de ácidos grasos por la **acil-CoA sintetasa** (cap. 22), se combinan con glicerol 3-fosfato para formar **fosfatidato** (1,2-diacilglicerol fosfato). Esto tiene lugar en dos etapas, catalizadas por la **glicerol-3-fosfato aciltransferasa** y por la **1-acilglicerol-3-fosfato aciltransferasa**. La **fosfatidato fosfohidrolasa** y la **diacilglicerol aciltransferasa (DGAT)** convierten el fosfatidato en 1,2-diacilglicerol, y después en triacilglicerol. La DGAT cataliza el único paso específico para la síntesis de triacilglicerol y se cree que es limitante en casi todas las circunstancias. En la mucosa intestinal, la **monoacilglicerol aciltransferasa** convierte el **monoacilglicerol** en 1,2-diacilglicerol en la **vía del monoacilglicerol**. Casi toda la actividad de estas enzimas reside en el retículo endoplásmico, pero parte se encuentra en las mitocondrias. La fosfatidato fosfohidrolasa se encuentra sobre todo en el citosol, pero la forma activa de la enzima está unida a membrana.

En la biosíntesis de fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina (figura 24-2), la colina o la etanolamina debe activarse primero mediante fosforilación por ATP seguida por enlace a difosfato de citidina (CDP). La CDP-colina o CDP-etanolamina resultante reacciona con 1,2-diacilglicerol para formar fosfatidilcolina o fosfatidiletanolamina, respectivamente. La fosfatidilserina se forma a partir de la fosfatidiletanolamina de modo directo por medio de reacción con serina (figura 24-2). La fosfatidilserina puede volver a formar fosfatidiletanolamina mediante descarboxilación. Una vía alternativa en el hígado permite que la fosfatidiletanolamina dé lugar de manera directa a fosfatidilcolina por medio de metilación progresiva del residuo etanolamina. A pesar de estas fuentes de colina, se considera que es un nutriente esencial en muchas especies de mamíferos, aunque esta certeza no se ha establecido en seres humanos.

La disponibilidad de FFA impulsa la regulación de la biosíntesis de triacilglicerol, fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina. Los FFA que escapan a la oxidación se convierten de preferencia en fosfolípidos y cuando este requerimiento se satisface se usan para la síntesis de triacilglicerol.

Un fosfolípido presente en las mitocondrias es la **cardiolipina** (difosfatidilglicerol; figura 15-10), la cual se forma a partir del fosfatidilglicerol que, a su vez, se sintetiza a partir del CDP-diacilglicerol (figura 24-2) y glicerol 3-fosfato de acuerdo con el esquema que se muestra en la **figura 24-3**. La cardiolipina, que se encuentra en la membrana interna de las mitocondrias, tiene una participación clave en la estructura y función mitocondriales, y se cree también que participa en la muerte celular programada **(apoptosis)**.

Biosíntesis de glicerol éter fosfolípidos

Esta vía se encuentra en peroxisomas. El dihidroxiacetona fosfato es el precursor de la porción glicerol de los glicerol éter fosfolípidos (**figura 24-4**). Este compuesto se combina con acil-CoA para dar 1-acildihidroxiacetona fosfato. El enlace éter se forma en la reacción siguiente, y origina 1-alquildihidroxiacetona fosfato, que luego se convierte en 1-alquilglicerol 3-fosfato. Después de acilación adicional en la posición 2, el 1-alquil-2-acilglicerol 3-fosfato (análogo al fosfatidato en la figura 24-2) resultante se hidroliza para dar el derivado glicerol libre. Los **plasmalógenos**, que comprenden gran parte de los fosfolípidos en las mitocondrias, se forman por desaturación del derivado 3-fosfoetanolamina análogo (figura 24-4). El **factor activador de plaquetas (PAF)** (1-alquil-2-acetil-*sn*-glicerol-3-fosfocolina) se sintetiza a

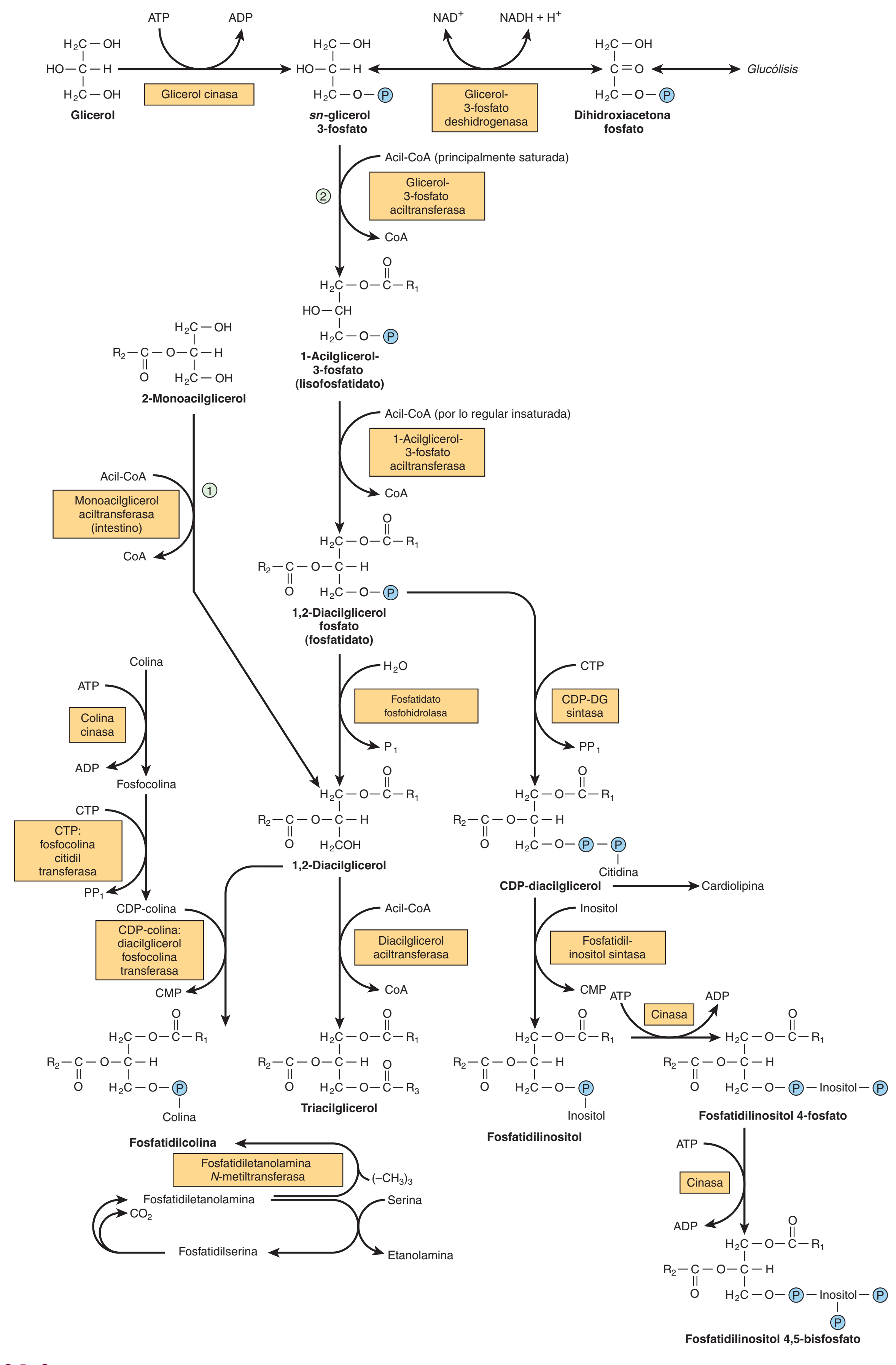


FIGURA 24–2 Biosíntesis de triacilglicerol y fosfolípidos. (①, vía del monoacilglicerol; (②, vía del glicerol fosfato.) La fosfatidiletanolamina puede formarse a partir de etanolamina mediante una vía similar a la que se muestra para la formación de fosfatidilcolina a partir de colina.

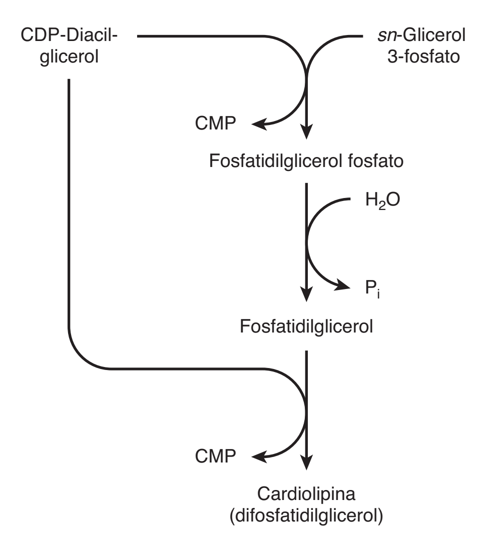


FIGURA 24–3 **Biosíntesis de cardiolipina.**

partir del derivado 3-fosfocolina correspondiente. Se forma en muchas células sanguíneas y en otros tejidos, y agrega plaquetas a concentraciones de apenas 10^{-11} mol/L. También tiene propiedades hipotensivas y ulcerogénicas, y participa en diversas respuestas biológicas, entre ellas inflamación, quimiotaxis y fosforilación de proteína.

La fosfolipasa permite la degradación y el remodelado de fosfogliceroles

Aun cuando los fosfolípidos se degradan de modo activo, cada porción de la molécula muestra recambio a un índice diferente; p. ej., el tiempo de recambio del grupo fosfato es diferente del tiempo de recambio del grupo 1-acilo. Esto se debe a la presencia de enzimas que permiten degradación parcial seguida por resíntesis (**figura 24-5**). La **fosfolipasa A_2** cataliza la hidrólisis de glicerofosfolípidos para formar un FFA y lisofosfolípido que,

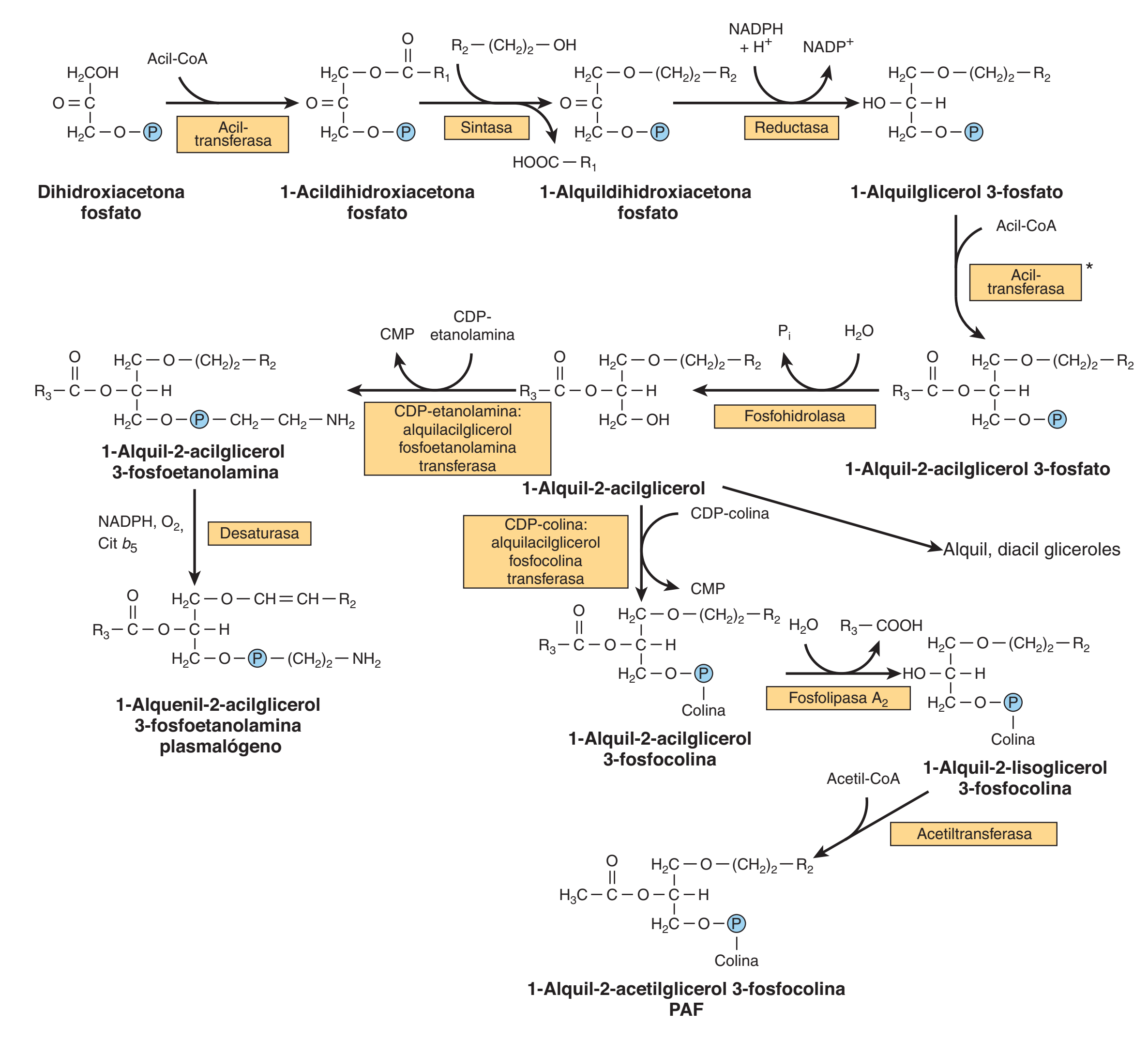


FIGURA 24–4 **Biosíntesis de lípidos éter, incluso plasmalógenos y PAF.** En la vía *de novo* para la síntesis de PAF, la acetil-CoA se incorpora en la etapa*, lo que evita los dos últimos pasos en la vía mostrada aquí.

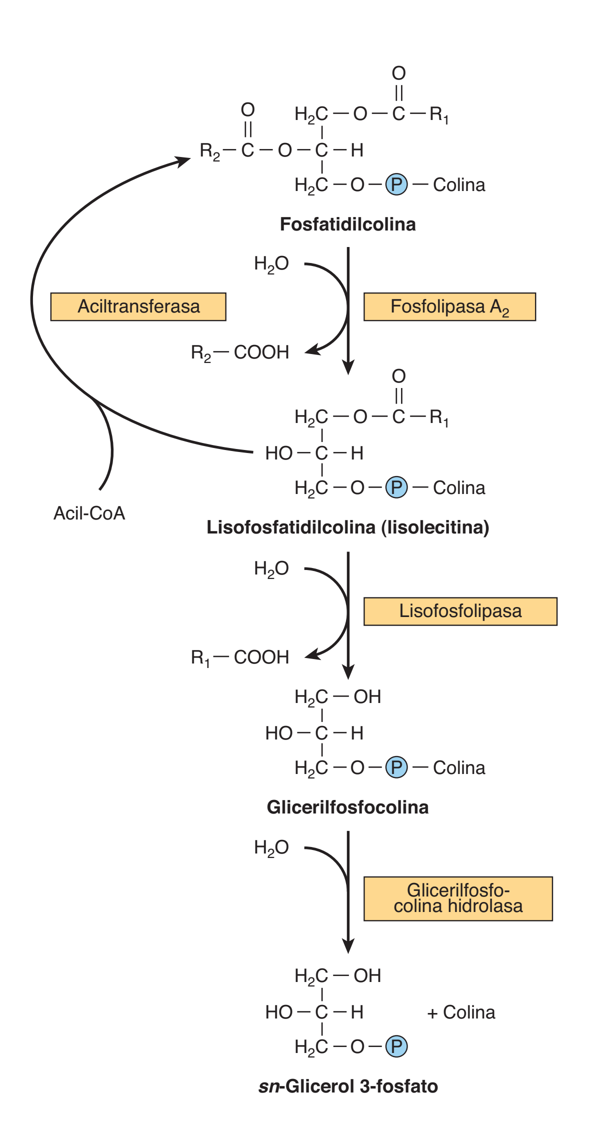


FIGURA 24–5 **Metabolismo de la fosfatidilcolina (lecitina).**

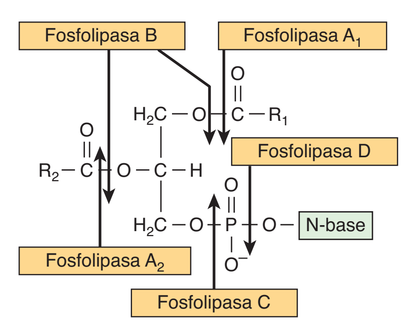


FIGURA 24–6 **Sitios de actividad hidrolítica de fosfolipasas sobre un sustrato fosfolípido.**

a su vez, se puede volver a acilar por la acil-CoA en presencia de una aciltransferasa. De manera alternativa, el lisofosfolípido (p. ej., lisolecitina) es atacado por la **lisofosfolipasa**, lo que forma la base glicerilo fosforilo correspondiente, que entonces puede ser dividida por una hidrolasa, lo que libera glicerol 3-fosfato más base. Las **fosfolipasas** $\mathbf{A_1}$, $\mathbf{A_2}$, **B**, **C** y **D** atacan los enlaces indicados en la **figura 24-6**. La **fosfolipasa** $\mathbf{A_2}$ se encuentra en el líquido pancreático y en el veneno de serpiente, así como en muchos tipos de células; la **fosfolipasa C** es una de las principales toxinas secretadas por bacterias, y se sabe que la **fosfolipasa D** participa en la transducción de señal en mamíferos.

La **lisolecitina (lisofosfatidilcolina)** puede formarse mediante una ruta alternativa que involucra la **lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT)**. Esta enzima, que se encuentra en el plasma, cataliza la transferencia de un residuo ácido graso desde la posición 2 de la lecitina hacia el colesterol para formar colesteril éster y lisolecitina, y se considera que es la causa de gran parte del colesteril éster en las lipoproteínas plasmáticas. Los ácidos grasos saturados de cadena larga se encuentran de modo predominante en la posición 1 de fosfolípidos, mientras que los ácidos poliinsaturados (p. ej., los precursores de PG) se incorporan con mayor frecuencia hacia la posición 2. La incorporación de ácidos grasos hacia lecitina ocurre de tres maneras: por medio de síntesis completa del fosfolípido, mediante transacilación entre colesteril éster y lisolecitina, y por medio de acilación directa de la lisolecitina por la acil-CoA. Así, es posible un intercambio continuo de los ácidos grasos, sobre todo en lo que se refiere a introducir EFA en moléculas de fosfolípido.

TODOS LOS ESFINGOLÍPIDOS SE FORMAN A PARTIR DE CERAMIDA

La **ceramida** se sintetiza en el retículo endoplásmico a partir del aminoácido serina (**figura 24-7**). La ceramida es una importante molécula emisora de señales (segundo mensajero) que regula vías, incluso la muerte celular programada **(apoptosis)**, el **ciclo celular**, y la **diferenciación y senescencia celulares**.

Las **esfingomielinas** (figura 15-13) son fosfolípidos y se forman cuando la ceramida reacciona con fosfatidilcolina para formar esfingomielina más diacilglicerol (**figura 24-8A**). Esto sucede sobre todo en el aparato de Golgi y en menor grado en la membrana plasmática.

Los glucoesfingolípidos son una combinación de ceramida con uno o más residuos azúcar

Los glucoesfingolípidos **(cerebrósidos)** más simples son la **galactosilceramida (GalCer)** y la **glucosilceramida (GlcCer)**. La GalCer es un lípido importante de la **mielina**, mientras que la GlcCer es el principal glucoesfingolípido de los **tejidos extraneurales** y un precursor de casi todos los glucoesfingolípidos más complejos. La GalCer (**figura 24-8B**) se forma en una reacción entre ceramida y UDPGal (formada por epimerización a partir de UDPGlc, figura 21-6).

La **sulfogalactosilceramida** y otros sulfolípidos como los **sulfo(galacto)-glicerolípidos**, y los **esteroide sulfatos** se forman luego de reacciones adicionales que comprenden

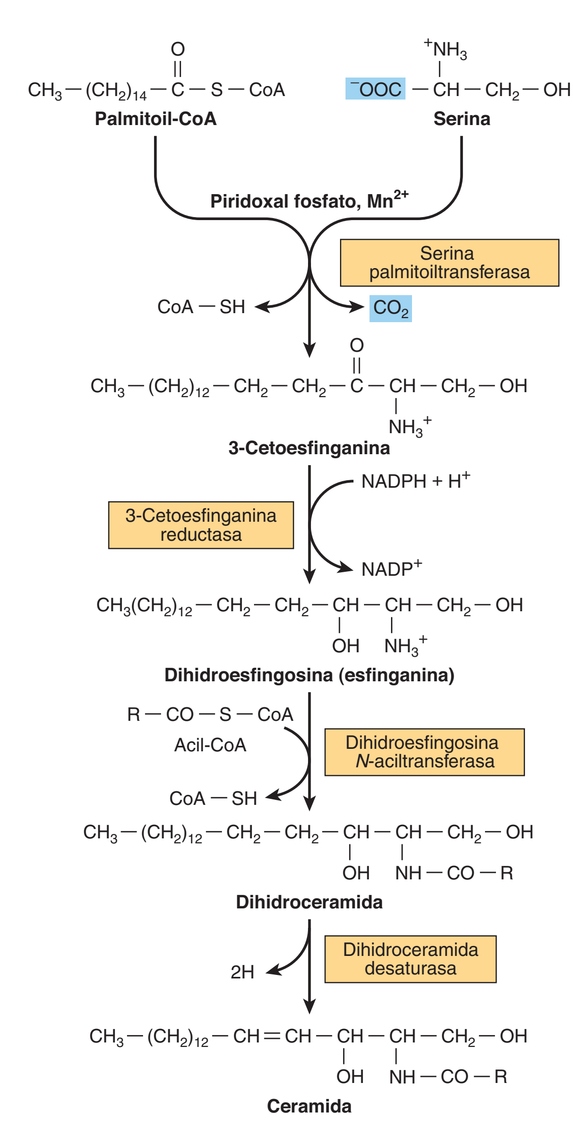


FIGURA 24–7 Biosíntesis de ceramida.

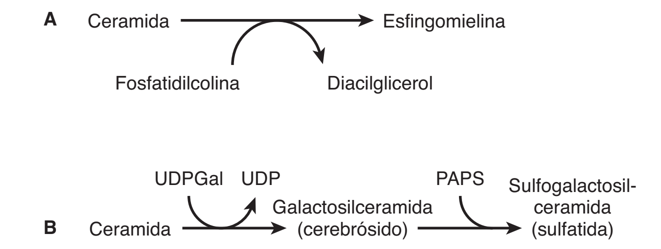


FIGURA 24–8 Biosíntesis de (A) esfingomielina, (B) galactosilceramida y su derivado sulfo. (PAPS, "sulfato activo", adenosina 3′-fosfato-5′-fosfosulfato.)

3′-fosfoadenosina-5′-fosfosulfato (PAPS; "sulfato activo"). Los **gangliósidos** se sintetizan a partir de la ceramida mediante la adición por pasos de azúcares activados (p. ej., UDPGlc y UDPGal) y un **ácido siálico**, por lo general ácido *N*-acetilneuramínico (**figura 24-9**). Puede formarse un gran número de gangliósidos de peso molecular creciente. Casi todas las enzimas que transfieren a azúcares desde azúcares nucleótido (glucosil transferasas) se encuentran en el aparato de Golgi.

Los **glucoesfingolípidos** son constituyentes de la hojuela externa de las membranas plasmáticas, y tienen importancia en la **adherencia celular** y el **reconocimiento celular**. Algunos son antígenos, por ejemplo, sustancias del grupo sanguíneo ABO. Ciertos gangliósidos funcionan como receptores para toxinas bacterianas (p. ej., para la **toxina del cólera**, que después activa a la adenilil ciclasa).

ASPECTOS CLÍNICOS

La deficiencia de surfactante pulmonar suscita síndrome de dificultad respiratoria

El **surfactante pulmonar** está compuesto en gran medida de lípido con algunas proteínas y carbohidratos, y evita que los

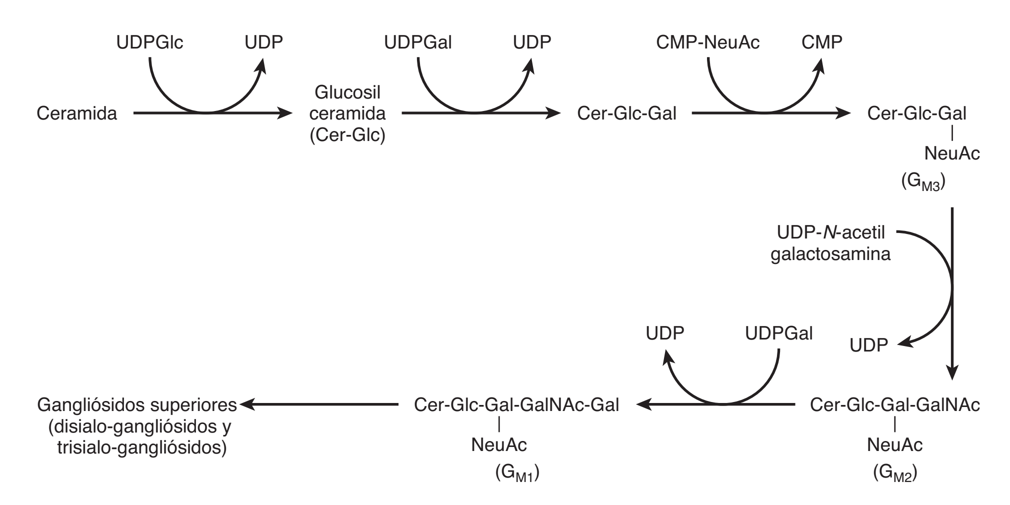


FIGURA 24–9 Biosíntesis de gangliósidos. (NeuAc, ácido *N*-acetilneuramínico.)

CUADRO 24–1 Ejemplos de esfingolipidosis

Enfermedad	Deficiencia de enzima	Lípido que se acumula	Síntomas clínicos
Enfermedad de Tay-Sachs	Hexosaminidasa A	Cer—Glc—Gal(NeuAc)÷GalNAc G_{M2} Gangliósido	Retraso mental, ceguera, debilidad muscular
Enfermedad de Fabry	α-Galactosidasa	Cer—Glc—Gal—÷Gal Globotriaosilceramida	Exantema cutáneo, insuficiencia renal (los síntomas completos sólo se observan en varones; recesiva ligada a X)
Leucodistrofia metacromática	Arilsulfatasa A	Cer—Gal—÷OSO_3 3-Sulfogalactosilceramida	Retraso mental y alteraciones psicológicas en adultos; desmielinización
Enfermedad de Krabbe	β-Galactosidasa	Cer—÷Gal Galactosilceramida	Retraso mental; casi no hay mielina
Enfermedad de Gaucher	β-Glucosidasa	Cer—÷Glc Glucosilceramida	Agrandamiento de hígado y bazo, erosión de huesos largos, retraso mental en lactantes
Enfermedad de Niemann-Pick	Esfingomielinasa	Cer—÷P—colina Esfingomielina	Hígado y bazo agrandados, retraso mental; mortal en etapas tempranas de la vida
Enfermedad de Farber	Ceramidasa	Acil—÷Esfingosina Ceramida	Ronquera, dermatitis, deformación del esqueleto, retraso mental; mortal en etapas tempranas de la vida

Abreviaturas: NeuAc, ácido *N*-acetilneuramínico; Cer, ceramida; Glc, glucosa; Gal, galactosa; ÷, sitio de reacción enzimática deficiente.

alvéolos se colapsen. El fosfolípido **dipalmitoil-fosfatidilcolina** disminuye la tensión de superficie en la interfaz aire-líquido y, de esta manera, reduce mucho el trabajo de la respiración, pero otros componentes lípidos y proteínicos surfactantes también tienen importancia en la función surfactante. La deficiencia de surfactante pulmonar en muchos recién nacidos pretérmino da lugar al **síndrome de dificultad respiratoria del recién nacido**. La administración de surfactante natural o artificial genera beneficio terapéutico.

Los fosfolípidos y esfingolípidos participan en la esclerosis múltiple y en las lipidosis

Ciertas enfermedades se caracterizan por cantidades anormales de estos lípidos en los tejidos, a menudo en el sistema nervioso. Es factible clasificarlas en dos grupos: 1) enfermedades desmielinizantes verdaderas y 2) esfingolipidosis.

En la **esclerosis múltiple**, que es una enfermedad desmielinizante, hay pérdida tanto de fosfolípidos (en particular plasmalógeno etanolamina) como de esfingolípidos de la sustancia blanca. De este modo, la composición de lípido de la sustancia blanca semeja la de la sustancia gris. El líquido cefalorraquídeo muestra cifras aumentadas de fosfolípido.

Las **esfingolipidosis (enfermedades por depósito de lípido)** son un grupo de enfermedades hereditarias que se producen por un defecto genético del catabolismo de lípidos que contienen esfingosina. Forman parte de un grupo de mayor tamaño de trastornos lisosómicos y muestran varias características constantes: 1) lípidos complejos que contienen ceramida se acumulan en las células, particularmente en las neuronas, y ocasionan neurodegeneración y acortamiento del lapso de vida. 2) El índice de **síntesis** del lípido almacenado es normal. 3) El defecto enzimático yace en la **vía de degradación lisosómica** de los esfingolípidos. 4) La magnitud del decremento de la actividad de la enzima afectada es similar en todos los tejidos. No se dispone de un tratamiento eficaz para muchas de las enfermedades, si bien se ha logrado cierto éxito con la **terapia de restitución de enzima** y el **trasplante de médula ósea** en el tratamiento de las enfermedades de Gaucher y de Fabry. Otros métodos promisorios son la **terapia de privación de sustrato** para inhibir la síntesis de esfingolípidos, y la **terapia con chaperón químico**. También se encuentra en investigación la **terapia génica** para trastornos lisosómicos. El **cuadro 24-1** muestra algunos ejemplos de las más importantes enfermedades por depósito de lípido.

La **deficiencia múltiple de sulfatasa** da por resultado acumulación de sulfogalactosilceramida, esteroide sulfatos y proteoglucanos, debido a una deficiencia combinada de arilsulfatasas A, B y C, y esteroide sulfatasa.

RESUMEN

- Los triacilgliceroles son los principales lípidos de almacenamiento de energía, mientras que los fosfogliceroles, la esfingomielina y los glucoesfingolípidos son anfipáticos y tienen funciones estructurales en membranas celulares, así como otras especializadas.
- Los triacilgliceroles y algunos fosfogliceroles se sintetizan por medio de acilación progresiva de glicerol 3-fosfato. La vía se bifurca en el fosfatidato, y forma inositol fosfolípidos y cardiolipina por una parte, y triacilglicerol y fosfolípidos colina y etanolamina por la otra.
- Los plasmalógenos y el PAF son éter fosfolípidos formados a partir de la dihidroxiacetona fosfato.
- Los esfingolípidos se forman a partir de ceramida (*N*-acilesfingosina). La esfingomielina está presente en membranas de organelos involucrados en procesos secretorios (p. ej., el aparato de Golgi). Los glucoesfingolípidos más simples son una combinación de ceramida más un residuo azúcar (p. ej., GalCer en la mielina). Los gangliósidos son glucoesfingolípidos más complejos que contienen más residuos azúcar más ácido

siálico. Están presentes en la capa externa de la membrana plasmática, donde contribuyen al glucocálix, y tienen importancia como antígenos y receptores celulares.

- Los fosfolípidos y esfingolípidos están implicados en varios procesos morbosos, entre ellos síndrome de dificultad respiratoria del recién nacido (falta de surfactante pulmonar), esclerosis múltiple (desmielinización) y esfingolipidosis (incapacidad para desintegrar esfingolípidos en lisosomas debido a defectos hereditarios de enzimas hidrolasa).

REFERENCIAS

McPhail LC: Glycerolipid in signal transduction. *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes,* 4th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2002:315–340.

Merrill AH: Sphingolipids. *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes,* 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008:363–398.

Meyer KC, Zimmerman JJ: Inflammation and surfactant. Paediatr Respir Rev 2002;3:308.

Prescott SM, Zimmerman GA, Stafforini DM, et al: Platelet-activating factor and related lipid mediators. Annu Rev Biochem 2000; 69:419.

Ruvolo PP: Intracellular signal transduction pathways activated by ceramide and its metabolites. Pharmacol Res 2003;47:383.

Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Vance DE, Vance JE (editors): Phospholipid biosynthesis in eukaryotes. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes,* 5th ed. Elsevier, 2008:213–244.

van Echten G, Sandhoff K: Ganglioside metabolism. Enzymology, topology, and regulation. J Biol Chem 1993;268:5341.

C A P Í T U L O

25

Transporte y almacenamiento de lípidos

Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

O B J E T I V O S

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Identificar los cuatro grupos principales de lipoproteínas plasmáticas, y las cuatro clases principales de lípidos que portan.
- Ilustrar la estructura de una partícula de lipoproteína.
- Indicar los principales tipos de apolipoproteína que se encuentran en las diferentes clases de lipoproteína.
- Explicar que el triacilglicerol es transportado desde el intestino (después de ingestión en la dieta) al hígado en quilomicrones, y desde el hígado hacia tejidos extrahepáticos en lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), y estas partículas son sintetizadas en células intestinales y hepáticas, respectivamente, por medio de procesos similares.
- Ilustrar los procesos mediante los cuales los quilomicrones son metabolizados por lipasas para formar remanentes de quilomicrones, que a continuación son eliminados de la circulación por el hígado.
- Explicar cómo la VLDL es metabolizada por lipasas hacia remanentes de VLDL (también llamados lipoproteína de densidad intermedia [IDL]), que pueden ser depurados por el hígado o convertidos en lipoproteína de baja densidad (LDL), que funciona para suministrar colesterol desde el hígado a tejidos extrahepáticos, y es captada por el receptor de LDL (apoB100,E).
- Explicar cómo se sintetiza la lipoproteína de alta densidad (HDL), que devuelve colesterol desde tejidos extrahepáticos hacia el hígado en transporte inverso de colesterol, indicar los mecanismos por medio de los cuales acepta colesterol desde tejidos, y mostrar cómo se metaboliza en el ciclo de la HDL.
- Entender cómo el hígado desempeña una función fundamental en el transporte de lípidos y el metabolismo de los mismos, y cómo la dieta y hormonas regulan la secreción hepática de VLDL.
- Estar consciente de los papeles de la LDL y la HDL en la promoción y el retraso, respectivamente, de la aparición de aterosclerosis.
- Indicar las causas de la enfermedad de hígado graso alcohólica y no alcohólica.
- Apreciar que el tejido adiposo es el principal almacén de triacilglicerol en el organismo, y explicar los procesos mediante los cuales se liberan ácidos grasos, y cómo están regulados.
- Entender el papel del tejido adiposo pardo en la generación de calor corporal.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La grasa que se absorbe a partir de la dieta, y los lípidos sintetizados por el hígado y el tejido adiposo deben transportarse entre los diversos tejidos y órganos para utilización y almacenamiento. Dado que los lípidos son insolubles en agua, el problema de cómo transportarlos en el plasma sanguíneo acuoso se resuelve al asociar lípidos no polares (triacilglicerol y colesteril ésteres) con lípidos (fosfolípidos y colesterol) y proteínas anfipáticos para hacer lipoproteínas miscibles en agua.

CUADRO 25–1 Composición de las lipoproteínas en plasma de humanos

Lipoproteína	Fuente	Diámetro (nm)	Densidad (g/ml)	Composición		Principales componentes lípidos	Apolipoproteínas
				Proteínas (%)	Lípidos (%)		
Quilomicrones	Intestino	90–1 000	<0.95	1–2	98–99	Triacilglicerol	A-I, A-II, A-IV,[1] B-48, C-I, C-II, C-III, E
Residuos de quilomicrones	Quilomicrones	45–150	<1.006	6–8	92–94	Triacilglicerol, fosfolípidos, colesterol	B-48, E
VLDL	Hígado (intestino)	30–90	0.95–1.006	7–10	90–93	Triacilglicerol	B-100, C-I, C-II, C-III
IDL	VLDL	25–35	1.006–1.019	11	89	Triacilglicerol, colesterol	B-100, E
LDL	VLDL	20–25	1.019–1.063	21	79	Colesterol	B-100
HDL	Hígado, intestino, VLDL, quilomicrones					Fosfolípidos, colesterol	A-I, A-II, A-IV, C-I, C-II, C-III, D,[2] E
HDL_1		20–25	1.019–1.063	32	68		
HDL_2		10–20	1.063–1.125	33	67		
HDL_3		5–10	1.125–1.210	57	43		
Preβ-HDL[3]		<5	>1.210				A-I
Albúmina/FFA	Tejido adiposo		>1.281	99	1	FFA	

[1]Secretadas con quilomicrones, pero se transfieren a HDL.
[2]Asociadas con subfracciones HDL_2 y HDL_3.
[3]Parte de una fracción menor conocida como lipoproteínas de muy alta densidad (VHDL).
Abreviaturas: HDL, lipoproteínas de alta densidad; IDL, lipoproteínas de densidad intermedia; LDL, lipoproteínas de baja densidad; VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad.

Los omnívoros (como el ser humano) que están alimentándose ingieren calorías en exceso en la fase anabólica del ciclo de alimentación, lo cual va seguido por un periodo de balance calórico negativo cuando el organismo recurre a sus reservas de carbohidratos y grasas. Las lipoproteínas median este ciclo al transportar lípidos desde los intestinos como quilomicrones —y desde el hígado como lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)— hacia casi todos los tejidos para oxidación y hacia el tejido adiposo para almacenamiento. El lípido se moviliza desde el tejido adiposo como ácidos grasos libres (FFA) unidos a la albúmina sérica. Las anormalidades del metabolismo de lipoproteínas dan por resultado diversas **hipolipoproteinemias** o **hiperlipoproteinemias**. La más frecuente de éstas se observa en la **diabetes mellitus**, en la cual la deficiencia de insulina origina movilización excesiva de FFA y subutilización de quilomicrones y VLDL, lo que conduce a **hipertriacilglicerolemia**. Casi todos los otros estados patológicos que afectan el transporte de lípidos se deben principalmente a defectos hereditarios, algunos de los cuales causan **hipercolesterolemia** y **aterosclerosis** prematura (cuadro 26-1). La **obesidad** —en especial la abdominal— es un factor de riesgo para mortalidad aumentada, hipertensión, diabetes mellitus tipo 2, hiperlipidemia, hiperglucemia y diversas disfunciones endocrinas.

LOS LÍPIDOS SE TRANSPORTAN EN EL PLASMA COMO LIPOPROTEÍNAS

En las lipoproteínas hay cuatro clases principales de lípidos

Los lípidos plasmáticos constan de **triacilgliceroles** (16%), **fosfolípidos** (30%), **colesterol** (14%) y **colesteril ésteres** (36%) y una fracción de tamaño mucho menor de ácidos grasos de cadena larga no esterificados (ácidos grasos libres o FFA) (4%). Esta última fracción, los **FFA**, es la más activa de los lípidos plasmáticos desde el punto de vista metabólico.

Se han identificado cuatro grupos principales de lipoproteínas plasmáticas

Dado que la grasa es menos densa que el agua, la densidad de una lipoproteína disminuye conforme se incrementa la proporción entre lípido y proteína (**cuadro 25-1**). Se han identificado cuatro grupos principales de lipoproteínas que tienen importancia fisiológica y en el diagnóstico clínico: 1) **quilomicrones**, derivados de la absorción intestinal de triacilglicerol y otros lípidos; 2) **lipoproteínas de muy baja densidad** (VLDL, o pre-β-lipoproteínas),

derivadas del hígado para la exportación de triacilglicerol; 3) **lipoproteínas de baja densidad** (LDL, o β-lipoproteínas), que representan una etapa final en el catabolismo de VLDL, y 4) **lipoproteínas de alta densidad** (HDL, o α-lipoproteínas), comprendidas en el transporte de colesterol y en el metabolismo de LDL y de quilomicrones. El triacilglicerol es el lípido predominante en quilomicrones y VLDL, mientras que el colesterol y los fosfolípidos son los lípidos predominantes en LDL y HDL, respectivamente (cuadro 25-1). Las lipoproteínas pueden separarse de acuerdo con sus propiedades electroforéticas en **α-**, **β-** y **pre-β-lipoproteínas**.

Las lipoproteínas constan de un centro no polar y una capa de superficie única de lípidos anfipáticos

El **centro de lípidos no polar** consta sobre todo de **triacilglicerol** y **colesteril éster**, y está rodeado por una **capa de superficie única** de moléculas de **fosfolípido** y **colesterol anfipáticas** (**figura 25-1**), las cuales se encuentran orientadas de modo que sus grupos polares miran hacia afuera, hacia el medio acuoso, como en la membrana celular (cap. 15). La porción proteína de una lipoproteína se conoce como una **apolipoproteína** o **apoproteína**, y constituye cerca de 70% de algunas HDL, y apenas 1% de los quilomicrones. Algunas apolipoproteínas son integrales y no se pueden eliminar, mientras que otras están libres para transferir hacia otras lipoproteínas.

La distribución de las apolipoproteínas caracteriza a la lipoproteína

En cada lipoproteína hay una o más apolipoproteínas (proteínas o polipéptidos). Las principales apolipoproteínas de HDL (α-lipoproteína) se designan A (cuadro 25-1). La principal apolipoproteína de la LDL (β-lipoproteína) es la apolipoproteína B

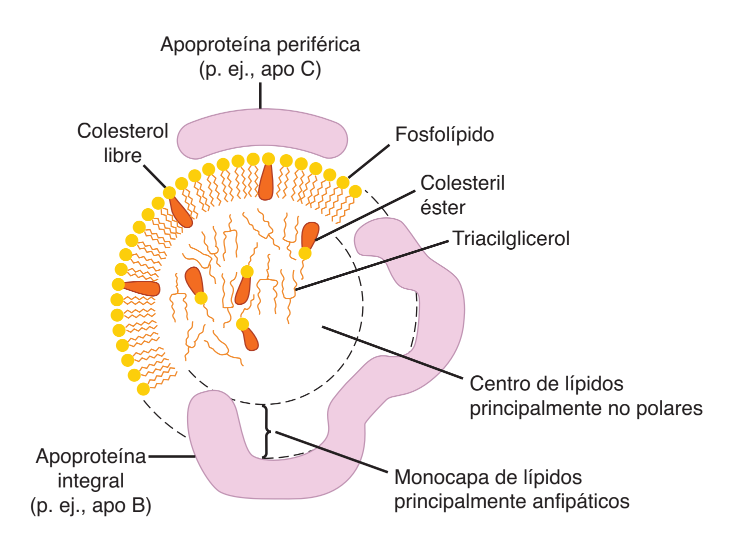


FIGURA 25–1 **Estructura generalizada de una lipoproteína plasmática.** Cabe hacer notar las similitudes con la estructura de la membrana plasmática. En la capa superficial hay pequeñas cantidades de colesteril éster y triacilglicerol, y un poco de colesterol libre en el centro.

(B-100), que también se encuentra en VLDL. Los quilomicrones contienen una forma truncada de apo B (B-48) que se sintetiza en el intestino, mientras que la B-100 se sintetiza en el hígado. La apo B-100 es una de las cadenas polipeptídicas únicas más largas conocidas; tiene 4 536 aminoácidos, y una masa molecular de 550 000 Da. La apo B-48 (48% de B-100) se forma después de transcripción del gen que codifica para apo B-100 mediante la introducción de una señal de paro hacia el transcrito de mRNA por una enzima editora de RNA. Las apo C-I, C-II y C-III son polipéptidos de menor tamaño (masa molecular 7 000 a 9 000 Da) libremente transferibles entre varias lipoproteínas diferentes. La apo E, que se encuentra en VLDL, HDL, quilomicrones y remanentes de quilomicrón, también es libremente transferible; explica 5 a 10% de las apolipoproteínas de VLDL totales en sujetos normales.

Las apolipoproteínas llevan a cabo varias funciones: 1) pueden formar parte de la estructura de la lipoproteína, por ejemplo, apo B; 2) son cofactores de enzimas, por ejemplo, C-II para la lipoproteína lipasa, A-I para la lecitina:colesterol aciltransferasa, o inhibidores de enzima, por ejemplo, apo A-II y apo C-III para la lipoproteína lipasa, apo C-I para la proteína de transferencia de colesteril éster, y 3) actúan como ligandos para la interacción con receptores de lipoproteína en los tejidos, por ejemplo, apo B-100 y apo E para el receptor de LDL, apo E para la proteína relacionada con receptor de LDL (LRP), que se ha identificado como el receptor de remanente, y apo A-I para el receptor de HDL. Sin embargo, las funciones de la apo A-IV y de la apo D aún no se definen con claridad, aunque se cree que la apo D es un factor importante en trastornos neurodegenerativos en seres humanos.

LOS FFA SE METABOLIZAN CON RAPIDEZ

Los **FFA** (también conocidos como ácidos grasos no esterificados) surgen en el plasma a partir de la desintegración de triacilglicerol en el tejido adiposo, o como resultado de la acción de la lipoproteína lipasa sobre los triacilgliceroles plasmáticos. Se encuentran **en combinación con la albúmina**, un solubilizante muy eficaz, en concentraciones que varían entre 0.1 y 2.0 μeq/ml de plasma. Las cifras son bajas cuando el individuo está completamente alimentado y aumentan hasta 0.7 a 0.8 μeq/ml en el estado de inanición. En la **diabetes mellitus** no controlada, la concentración puede incrementarse hasta 2 μeq/ml.

Los FFA se eliminan de la sangre con rapidez extrema y se oxidan (lo que satisface 25 a 50% de los requerimientos de energía en la inanición) o se esterifican para formar triacilglicerol en los tejidos. En la inanición, los lípidos esterificados de la circulación o en los tejidos también se oxidan, de modo particular en células del corazón y el músculo estriado, donde se encuentran considerables reservas de lípido.

La captación de FFA por los tejidos muestra vínculo directo con las cifras plasmáticas de FFA que, a su vez, están determinadas por el índice de lipólisis en el tejido adiposo. Luego de disociación del complejo de ácido graso-albúmina en la membrana plasmática, los ácidos grasos se unen a una **proteína de transporte de ácido graso de membrana** que actúa como un

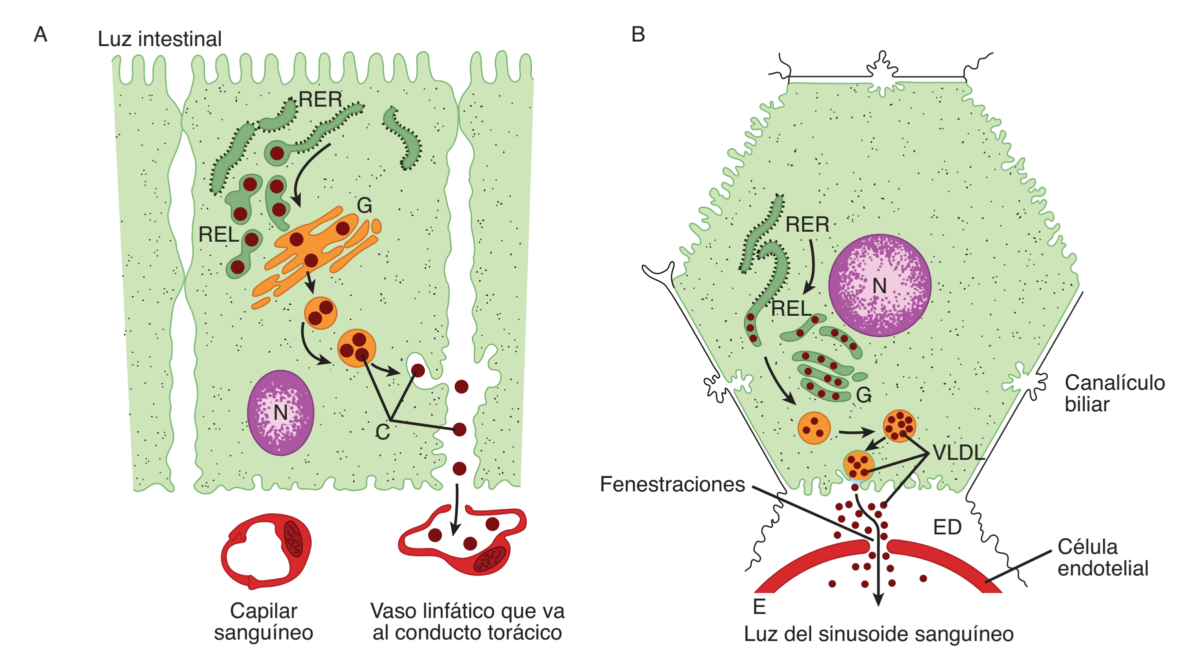


FIGURA 25–2 La formación y excreción de (A) quilomicrones por una célula intestinal y (B) VLDL por una célula hepática. (RER, retículo endoplásmico rugoso; REL, retículo endoplásmico liso; G, aparato de Golgi; N, núcleo; C, quilomicrones; VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad; E, endotelio; ED, espacio de Disse, que contiene plasma sanguíneo.) La apolipoproteína B, sintetizada en el RER, se incorpora en lipoproteínas en partículas con triacilglicerol, colesterol y fosfolípidos en el REL. Luego de la adición de residuos carbohidrato en el G, se liberan de las células mediante pinocitosis inversa. Los quilomicrones pasan hacia el sistema linfático. La VLDL se secreta hacia el ED y después hacia los sinusoides hepáticos a través de fenestraciones en el revestimiento endotelial.

cotransportador de membrana con Na^+. En el momento de entrar al citosol, los FFA son unidos por **proteínas de unión a ácido graso** intracelulares. Se cree que la función de estas proteínas en el transporte intracelular es similar a la de la albúmina sérica en el transporte extracelular de ácidos grasos de cadena larga.

EL TRIACILGLICEROL SE TRANSPORTA DESDE LOS INTESTINOS EN QUILOMICRONES Y DESDE EL HÍGADO EN LIPOPROTEÍNAS DE MUY BAJA DENSIDAD

Por definición, los **quilomicrones** se encuentran en el **quilo** formado sólo por el sistema linfático que **drena el intestino**. Se encargan del transporte de todos los lípidos de la dieta hacia la circulación. También se encuentran pequeñas cantidades de VLDL en el quilo; empero, casi todas las **VLDL en el plasma** son de origen hepático. **Son los vehículos de transporte de triacilglicerol desde el hígado hacia los tejidos extrahepáticos**.

Hay notorias similitudes en los mecanismos de formación de quilomicrones por las células intestinales y de VLDL por las células del parénquima hepático (**figura 25-2**), quizá porque —aparte de la glándula mamaria— el intestino y el hígado son los únicos tejidos a partir de los cuales se secreta lípido particulado. Los quilomicrones y las VLDL recién secretados o "nacientes" sólo contienen una pequeña cantidad de apolipoproteínas C y E, y el complemento total se adquiere a partir de HDL en la circulación (**figuras 25-3** y **25-4**). Sin embargo, la apo B es una parte integral de las partículas de lipoproteína, está incorporada dentro de las células, y es esencial para la formación de quilomicrones y de VLDL. En la **abetalipoproteinemia** (una enfermedad rara), no se forman lipoproteínas que contienen apo B, y se acumulan gotitas de lípido en el intestino y el hígado.

A continuación se presenta una exposición más detallada de los factores que controlan la secreción hepática de VLDL.

LOS QUILOMICRONES Y LAS LIPOPROTEÍNAS DE MUY BAJA DENSIDAD SE CATABOLIZAN CON RAPIDEZ

La depuración de quilomicrones de la sangre es rápida; el tiempo medio de desaparición es de menos de 1 h en seres humanos. Las partículas de mayor tamaño se catabolizan con mayor rapidez que las de menor tamaño. Los ácidos grasos que se originan a partir del triacilglicerol de quilomicrón van de modo predominante al tejido adiposo, corazón y músculo (80%), mientras que alrededor de 20% va al hígado. Con todo, **el hígado no metaboliza quilomicrones o VLDL naturales de modo significativo**; así, los ácidos grasos en el hígado deben ser secundarios a su metabolismo en tejidos extrahepáticos.

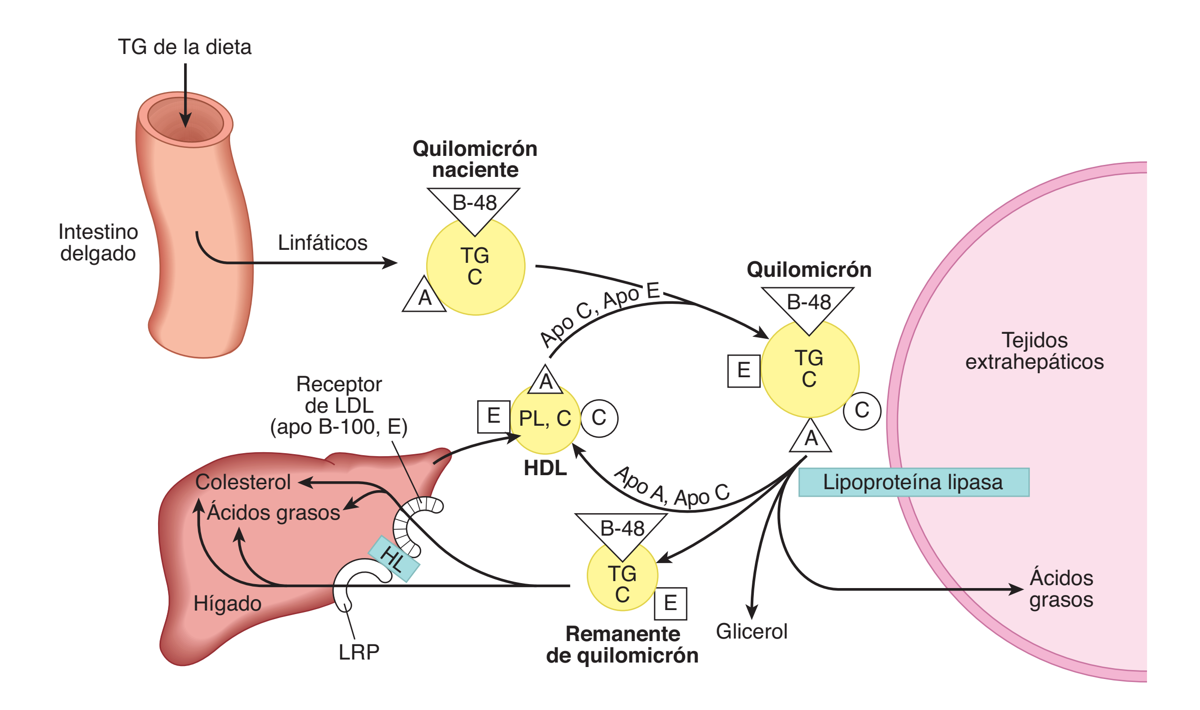


FIGURA 25–3 **Destino metabólico de quilomicrones.** (A, apolipoproteína A; B-48, apolipoproteína B-48; C, apolipoproteína C; E, apolipoproteína E; HDL, lipoproteína de alta densidad; TG, triacilglicerol; C, colesterol y colesteril éster; PL, fosfolípido; HL, lipasa hepática; LRP, proteína relacionada con el receptor de LDL.) Sólo se muestran los lípidos predominantes.

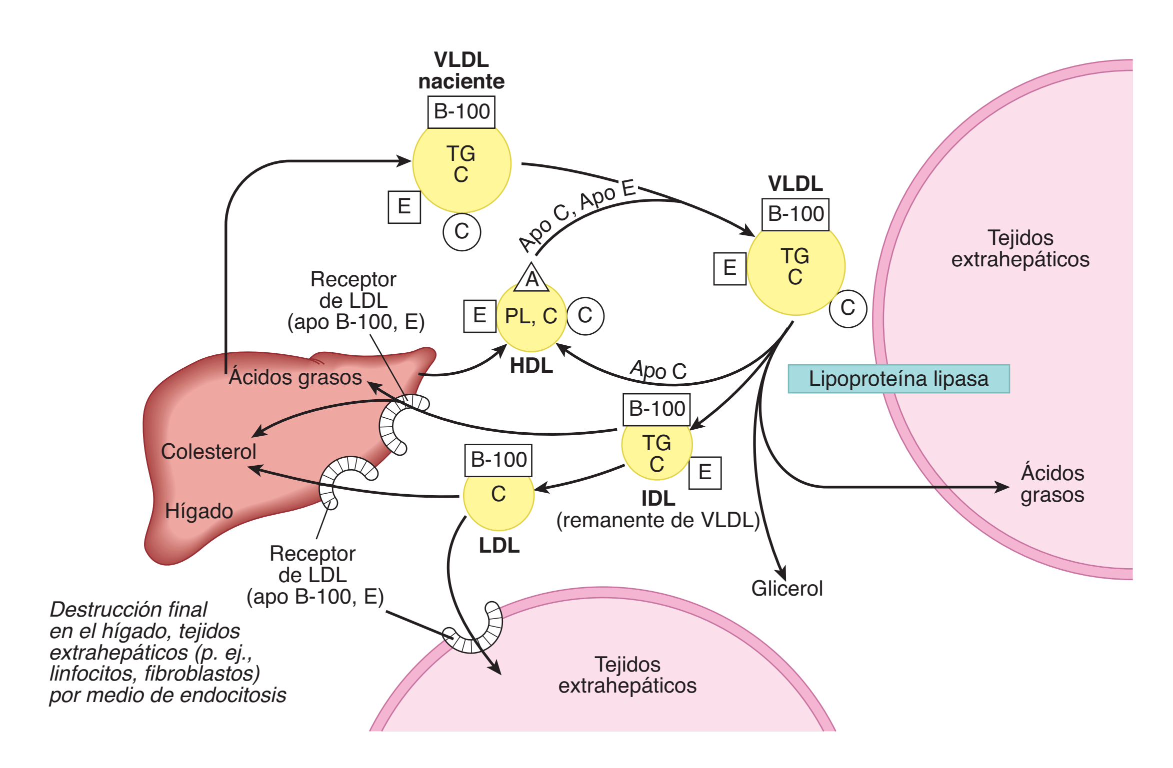


FIGURA 25–4 **Destino metabólico de VLDL y producción de LDL.** (A, apolipoproteína A; B-100, apolipoproteína B-100; C, apolipoproteína C; E, apolipoproteína E; HDL, lipoproteína de alta densidad; TG, triacilglicerol; IDL, lipoproteína de densidad intermedia; C, colesterol y colesteril éster; PL, fosfolípido.) Sólo se muestran los lípidos predominantes. Es posible que algo de IDL también se metabolice por medio de la LRP, proteína relacionada con receptor de lipoproteínas de baja densidad.

Los triacilgliceroles de quilomicrones y VLDL se hidrolizan por medio de la lipoproteína lipasa

La **lipoproteína lipasa** está localizada sobre las paredes de los capilares sanguíneos y anclada al endotelio mediante cadenas de proteoglucano con carga negativa de heparán sulfato. Se ha encontrado en el corazón, el tejido adiposo, el bazo, pulmones, médula renal, aorta, diafragma y glándula mamaria en lactación, aunque no es activa en el hígado de adultos. Por lo general no se encuentra en sangre; aun así, después de la inyección de **heparina** se libera lipoproteína lipasa desde sus sitios de unión a heparán sulfato hacia la circulación. La **lipasa hepática** está unida a la superficie sinusoidal de células hepáticas, y la heparina también la libera. Comoquiera que sea, esta enzima no reacciona con facilidad con quilomicrones o VLDL, sino que participa en el metabolismo de remanente de quilomicrón y de HDL.

Tanto los **fosfolípidos** como la **apo C-II** se requieren como cofactores para la actividad de la lipoproteína lipasa, mientras que la **apo A-II** y la **apo C-III** actúan como inhibidores. La hidrólisis tiene lugar mientras las lipoproteínas están fijas a la enzima sobre el endotelio. El triacilglicerol se hidroliza de manera progresiva pasando por un diacilglicerol hasta un monoacilglicerol y, por último, hacia FFA más glicerol. Algunos de los FFA liberados regresan a la circulación, fijos a albúmina, pero la mayor parte se transporta hacia el tejido (figuras 25-3 y 25-4). La lipoproteína lipasa cardiaca tiene una K_m baja para triacilglicerol, alrededor de una décima parte de aquella para la enzima en el tejido adiposo. Esto permite que el suministro de ácidos grasos provenientes de triacilglicerol se **redirija desde el tejido adiposo hacia el corazón en el estado de inanición** cuando hay decremento del triacilglicerol plasmático. Ocurre una redirección similar hacia la glándula mamaria durante la lactación, lo que permite la captación de ácido graso de triacilglicerol de lipoproteína para la síntesis de **grasa de la leche**. El **receptor de VLDL** tiene importancia en el suministro de ácidos grasos desde triacilglicerol de VLDL hacia adipocitos al unir VLDL y llevarla en contacto estrecho con la lipoproteína lipasa. En el tejido adiposo, la **insulina** aumenta la síntesis de lipoproteína lipasa en los adipocitos, y su translocación hacia la superficie luminal del endotelio capilar.

La acción de la lipoproteína lipasa forma lipoproteínas remanentes

La reacción con lipoproteína lipasa causa la pérdida de 70 a 90% del triacilglicerol de quilomicrones, y la pérdida de apo C (que regresa a HDL), no así de apo E, que se retiene. El **remanente de quilomicrón** resultante tiene alrededor de la mitad del diámetro del quilomicrón original, y está relativamente enriquecido en colesterol y colesteril ésteres debido a la pérdida de triacilglicerol (figura 25-3). Ocurren cambios similares a VLDL, con la formación de **remanentes de VLDL** (también denominados **lipoproteínas de densidad intermedia** [**IDL**]) (figura 25-4).

El hígado se encarga de la captación de lipoproteínas remanentes

El hígado capta remanentes de quilomicrón por medio de endocitosis mediada por receptor, y los colesteril ésteres y triacilgliceroles se hidrolizan y metabolizan. La captación está mediada por **apo E** (figura 25-3), a través de dos receptores dependientes de apo E, el **receptor de LDL (apo B-100, E)** y la **LRP**. La lipasa hepática tiene una función doble: 1) actúa como un ligando para facilitar la captación de remanentes, y 2) hidroliza el triacilglicerol y fosfolípido remanente.

Luego de metabolismo hacia IDL, la VLDL puede ser captada de modo directo por el hígado por medio del receptor de LDL (apo B-100, E), o convertirse en LDL. En cada una de estas partículas de lipoproteína únicamente hay una molécula de apo B-100 y ésta se conserva en el transcurso de las transformaciones. De esta manera, cada partícula de LDL se deriva de una partícula de VLDL precursora única (figura 25-4). En seres humanos, una proporción relativamente grande de IDL forma LDL, lo que explica las concentraciones incrementadas de LDL en seres humanos en comparación con muchos otros mamíferos.

LA LDL SE METABOLIZA MEDIANTE EL RECEPTOR DE LDL

El hígado y muchos otros tejidos extrahepáticos expresan **el receptor de LDL (apo B-100, E)**; recibe ese nombre porque es específico para apo B-100, no así para B-48, que carece del dominio terminal carboxilo de B-100 que contiene el ligando receptor de LDL, y capta asimismo lipoproteínas ricas en apo E. Un 30% de LDL se degrada en tejidos extrahepáticos y 70% en el hígado. Hay una correlación positiva entre la incidencia de **aterosclerosis** y las cifras plasmáticas de colesterol de LDL. El receptor de LDL (apo B-100, E) es defectuoso en la **hipercolesterolemia familiar**, enfermedad genética que aumenta las concentraciones de colesterol de LDL y suscita aterosclerosis prematura (cuadro 26-1). En el capítulo 26 se presentan más detalles de la regulación del receptor de LDL.

LA HDL PARTICIPA EN EL METABOLISMO TANTO DE TRIACILGLICEROL COMO DE COLESTEROL DE LIPOPROTEÍNA

La **HDL** se sintetiza tanto en hígado como en intestino y se secreta a partir de los mismos (**figura 25-5**). De cualquier modo, la apo C y la apo E se sintetizan en el hígado y se transfieren desde la HDL hepática hacia la HDL intestinal cuando esta última entra en el plasma. Una función importante de la HDL es actuar como un depósito para la apo C y apo E requeridas en el metabolismo de quilomicrones y VLDL. La HDL naciente consta de bicapas de fosfolípido discoidales que contienen apo A y colesterol libre. Estas lipoproteínas son similares a las partículas que se encuentran en el plasma de enfermos que tienen una deficiencia de la enzima plasmática **lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT)** y en el de aquellos con **ictericia obstructiva**. La LCAT —y el activador de LCAT apo A-I— se unen a las partículas discoidales, y el fosfolípido de superficie y el colesterol libre se convierten en colesteril ésteres y lisolecitina (cap. 24). Los colesteril ésteres no polares se mueven hacia el interior hidrofóbico de la bicapa, mientras que la lisolecitina se transfiere hacia la

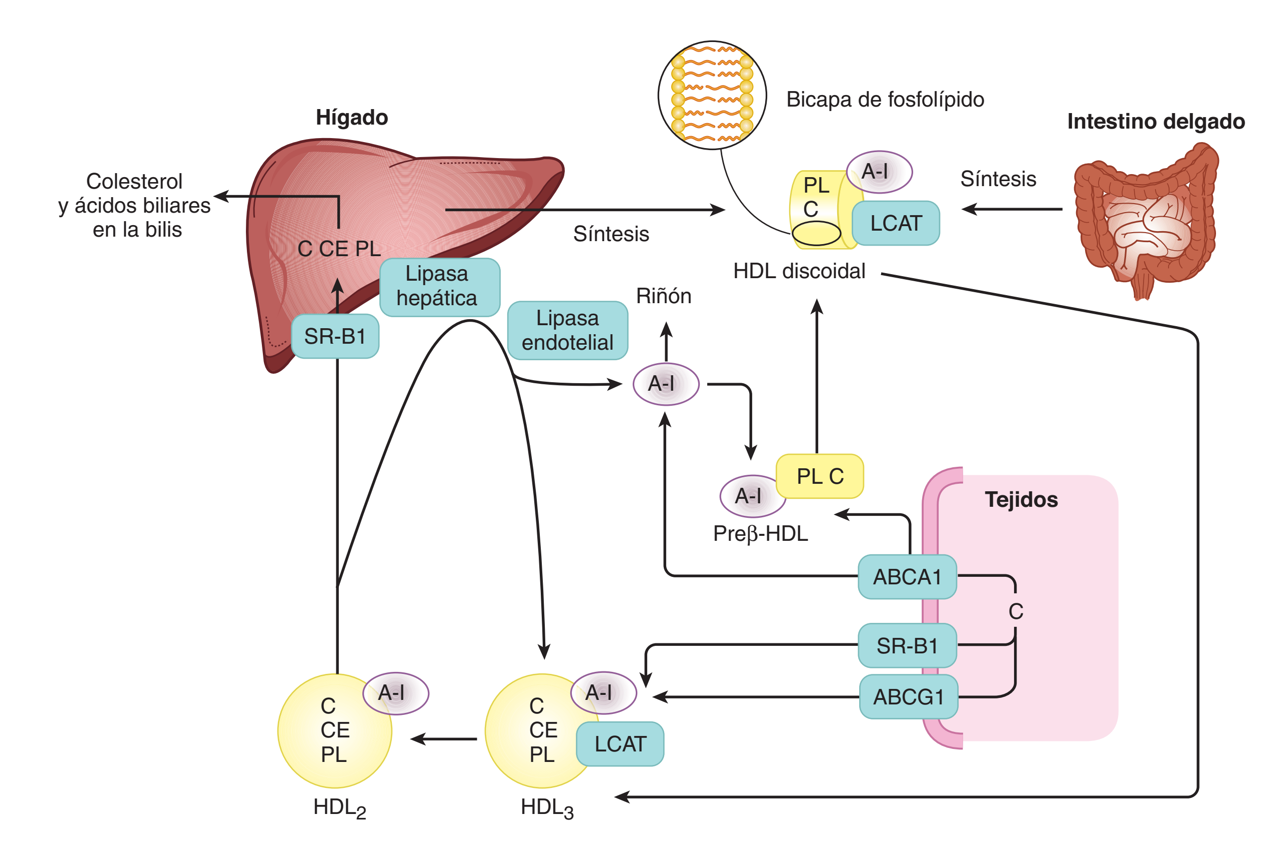


FIGURA 25–5 **Metabolismo de HDL en el transporte inverso de colesterol.** (LCAT, lecitina:colesterol aciltransferasa; C, colesterol; CE, colesteril éster; PL, fosfolípido; A-I, apolipoproteína A-I; SR-B1, receptor recolector B1; ABCA1, transportadores de casete A1 de unión a ATP; ABCG1, transportadores de casete G1 de unión a ATP.) Preβ-HDL, HDL_2, HDL_3 (cuadro 25-1). Los constituyentes de superficie excedentes por la acción de la lipoproteína lipasa sobre los quilomicrones y VLDL son otra fuente de preβ-HDL. La actividad de lipasa hepática es incrementada por andrógenos y disminuida por estrógenos, lo cual quizá explique las cifras plasmáticas más altas de HDL_2 en mujeres.

albúmina plasmática. De este modo, se genera un centro no polar, lo que forma una HDL seudomicelar, esférica, cubierta por una película superficial de lípidos y apolipoproteínas polares. Esto ayuda a la eliminación de colesterol no esterificado excesivo desde lipoproteínas y tejidos (véase más adelante). El **receptor recolector B1 clase B (SR-B1)** ha sido identificado como un **receptor de HDL con una función doble en el metabolismo de HDL**. En el hígado y en tejidos esteroidogénicos, se une a la HDL por medio de la apo A-I, y el colesteril éster se lleva de manera selectiva hacia las células, aunque la partícula en sí, incluso apo A-I, no es captada. Por otra parte, en los tejidos, el SR-B1 media la aceptación del colesterol que sale de las células por la HDL, que después lo transporta hacia el hígado para excreción mediante la bilis (sea como colesterol o luego de conversión en ácidos biliares) en el proceso conocido como **transporte inverso de colesterol** (figura 25-5). La HDL_3, generada a partir de HDL discoidal por medio de la acción de LCAT, acepta colesterol proveniente de los tejidos mediante el **SR-B1**, y a continuación la LCAT esterifica el colesterol, lo que incrementa el tamaño de las partículas para formar la HDL_2 menos densa. Después se vuelve a formar HDL_3, sea después de suministro selectivo de colesteril éster al hígado por medio del SR-B1 o mediante hidrólisis de fosfolípido y triacilglicerol de HDL_2 por medio de la lipasa hepática y la lipasa endotelial. Este intercambio de HDL_2 y HDL_3 se llama el **ciclo de HDL** (figura 25-5). La apo A-I libre se libera mediante estos procesos y forma **preβ-HDL** luego de relacionarse con una cantidad mínima de fosfolípido y colesterol. La apo A-I excesiva se destruye en los riñones. Un segundo mecanismo importante para el transporte inverso de colesterol comprende los **transportadores de casete A1 de unión a ATP (ABCA1)** y **G1 (ABCG1)**, los cuales son miembros de una familia de proteínas transportadoras que unen la hidrólisis de ATP a la unión de un sustrato, lo que permite que se transporten a través de la membrana. El ABCG1 media el transporte de colesterol desde células hacia HDL, mientras que el ABCA1 promueve de preferencia el flujo de salida de partículas poco lipidadas, como preβ-HDL o apo A-1, que después se convierten en HDL_3 por medio de la HDL discoidal (figura 25-5). La preβ-HDL es la forma más potente de HDL que induce el flujo de salida de colesterol desde los tejidos. Las cifras de HDL varían de modo recíproco con las concentraciones plasmáticas de triacilglicerol, y de manera directa con la actividad de la lipoproteína lipasa. Esto puede deberse a constituyentes de superficie excesivos, por ejemplo, fosfolípido y apo A-I, que se liberan durante la hidrólisis de quilomicrones y VLDL, y contribuyen a la formación de preβ-HDL y HDL discoidal. Las cifras de HDL_2 **muestran relación inversa con la incidencia de aterosclerosis**, quizá porque reflejan la eficiencia del transporte de colesterol inverso. El HDL_c (HDL_1) se encuentra en la sangre de animales con hipercolesterolemia inducida por la dieta. Tiene alto contenido de colesterol, y su única apolipo-

proteína es la apo E. Parece ser que todas las lipoproteínas plasmáticas son componentes interrelacionados de uno o más ciclos metabólicos que juntos se encargan del proceso complejo del transporte de lípidos en el plasma.

EL HÍGADO DESEMPEÑA UNA FUNCIÓN FUNDAMENTAL EN EL TRANSPORTE Y METABOLISMO DE LÍPIDOS

El hígado efectúa las funciones importantes que siguen en el metabolismo de lípidos:

1. Facilita la digestión y absorción de lípidos mediante la producción de **bilis**, que contiene colesterol y sales biliares sintetizados dentro del hígado *de novo* o luego de captación de colesterol de lipoproteína (cap. 26).
2. **Sintetiza y oxida ácidos grasos** de modo activo (caps. 22 y 23), y sintetiza triacilgliceroles y fosfolípidos (cap. 24).
3. **Convierte ácidos grasos en cuerpos cetónicos** (**cetogénesis**) (cap. 22).
4. Tiene una participación esencial en **la síntesis y el metabolismo de proteínas plasmáticas** (este capítulo).

La secreción de VLDL hepática se relaciona con el estado hormonal y en cuanto a dieta

Los eventos celulares comprendidos en la formación y secreción de VLDL ya se describieron (figura 25-2) y se muestran en la **figura 25-6**. La síntesis hepática de triacilglicerol proporciona el estímulo inmediato para la formación y secreción de VLDL. Los ácidos grasos usados se derivan de dos posibles fuentes: 1) síntesis en el hígado a partir de **acetil-CoA** derivada principalmente de carbohidratos (tal vez no tan importante en seres humanos) y 2) captación de **FFA** desde la circulación. La primera fuente predomina en el estado bien alimentado, cuando la síntesis de ácidos grasos es alta y la concentración de FFA circulantes es baja. Dado que en estas condiciones el triacilglicerol por lo normal no se acumula en el hígado, debe inferirse que se transporta desde dicho órgano en VLDL con tanta rapidez como se sintetiza. Los FFA que provienen de la circulación son la principal fuente en el transcurso de inanición, el consumo de dietas con alto contenido de grasa, o en la diabetes mellitus, cuando la lipogénesis hepática está inhibida. La síntesis de VLDL tiene lugar en el retículo endoplasmático (ER) y requiere la **proteína de transferencia de triacilglicerol microsomal (MTP)**, que transfiere triacilglicerol desde el citosol hacia la luz del ER, donde es incorporado en partículas con colesterol, fosfolípidos y apo B-100 (figura 25-6). Los factores que aumentan tanto la síntesis de triacilglicerol como la secreción de VLDL por el hígado son: 1) el estado posprandial más que el de inanición; 2) el consumo de dietas con alto contenido de carbohidratos (en particular si contienen sacarosa o fructosa), lo que lleva a índices altos de lipogénesis y esterificación de ácidos grasos; 3) cifras altas de FFA circulantes; 4) ingestión de etanol, y 5) la presencia de concentraciones altas de insulina, y bajas de glucagón, lo que incrementa la síntesis y la esterificación de ácidos grasos, e inhibe su oxidación (figura 25-6).

ASPECTOS CLÍNICOS

El desequilibrio del índice de la formación y exportación de triacilglicerol produce hígado graso

Por diversas razones, los lípidos —principalmente como triacilglicerol— pueden acumularse en el hígado (figura 25-6). La acumulación extensa se considera un estado patológico. La **enfermedad de hígado graso no alcohólico** es el trastorno hepático más frecuente en todo el mundo. Cuando la acumulación de lípido en el hígado se hace crónica, pueden aparecer cambios inflamatorios y fibróticos que llevan a **esteatohepatitis no alcohólica**, la cual puede progresar hacia enfermedades del hígado, entre ellas **cirrosis**, **hepatocarcinoma** e **insuficiencia hepática**.

Los hígados grasos caen dentro de dos categorías principales. El primer tipo muestra vínculo con **cifras plasmáticas aumentadas de FFA** que dependen de la movilización de grasa desde el tejido adiposo o de la hidrólisis de triacilglicerol de lipoproteína por la lipoproteína lipasa en tejidos extrahepáticos. La producción de VLDL no lleva el mismo ritmo que el flujo hacia adentro y esterificación cada vez mayores de FFA, lo que permite que se acumule triacilglicerol, que a su vez ocasiona hígado graso. Esto ocurre durante la **inanición** y el consumo de **dietas con alto contenido de grasa**. También puede haber alteración de la capacidad para secretar VLDL (p. ej., en la inanición). En la **diabetes mellitus** no controlada, la **enfermedad de los corderos gemelos** y la **cetosis en ganado vacuno**, la infiltración grasa es lo bastante grave como para dar por resultado palidez (aspecto adiposo) visible y agrandamiento del hígado con posible disfunción hepática.

El segundo tipo de hígado graso por lo general se debe a un **bloqueo metabólico en la producción de lipoproteínas plasmáticas**, lo que permite que se acumule triacilglicerol. En teoría, la lesión puede deberse a 1) un bloqueo de la síntesis de apolipoproteína (o un incremento de su degradación antes de que pueda incorporarse hacia VLDL), 2) bloqueo de la síntesis de la lipoproteína a partir de lípido y apolipoproteína, 3) fracaso en el suministro de fosfolípidos que se encuentran en las lipoproteínas, o 4) fracaso del mecanismo secretorio mismo.

Un tipo de hígado graso que se ha estudiado de manera extensa en ratas se produce por una deficiencia de **colina** que, en consecuencia, se ha llamado un **factor lipotrópico**. El antibiótico puromicina, la etionina (ácido α-amino-γ-mercaptobutírico), el tetracloruro de carbono, cloroformo, fósforo, plomo y arsénico originan hígado graso, y una notoria reducción de la concentración de VLDL en sangre de ratas. La colina no protegerá al organismo contra estos agentes, pero parece ayudar en la recuperación. La acción del tetracloruro de carbono probablemente comprende la formación de radicales libres que causan peroxidación lípida. La acción antioxidante de dietas complementadas con **vitamina E** proporciona cierta protección contra esto. Se cree que la acción de la etionina depende de una reducción de la disponibilidad de ATP debido a que remplaza metionina en la *S*-adenosilmetionina, lo que atrapa la adenina disponible y evita la síntesis de ATP. El **ácido orótico** también suscita hígado graso; se cree que interfiere con la glucosilación de la lipoproteína, lo que inhibe la liberación, y puede alterar también el reclutamiento de triacilglicerol hacia las partículas. Una deficiencia de vitamina E

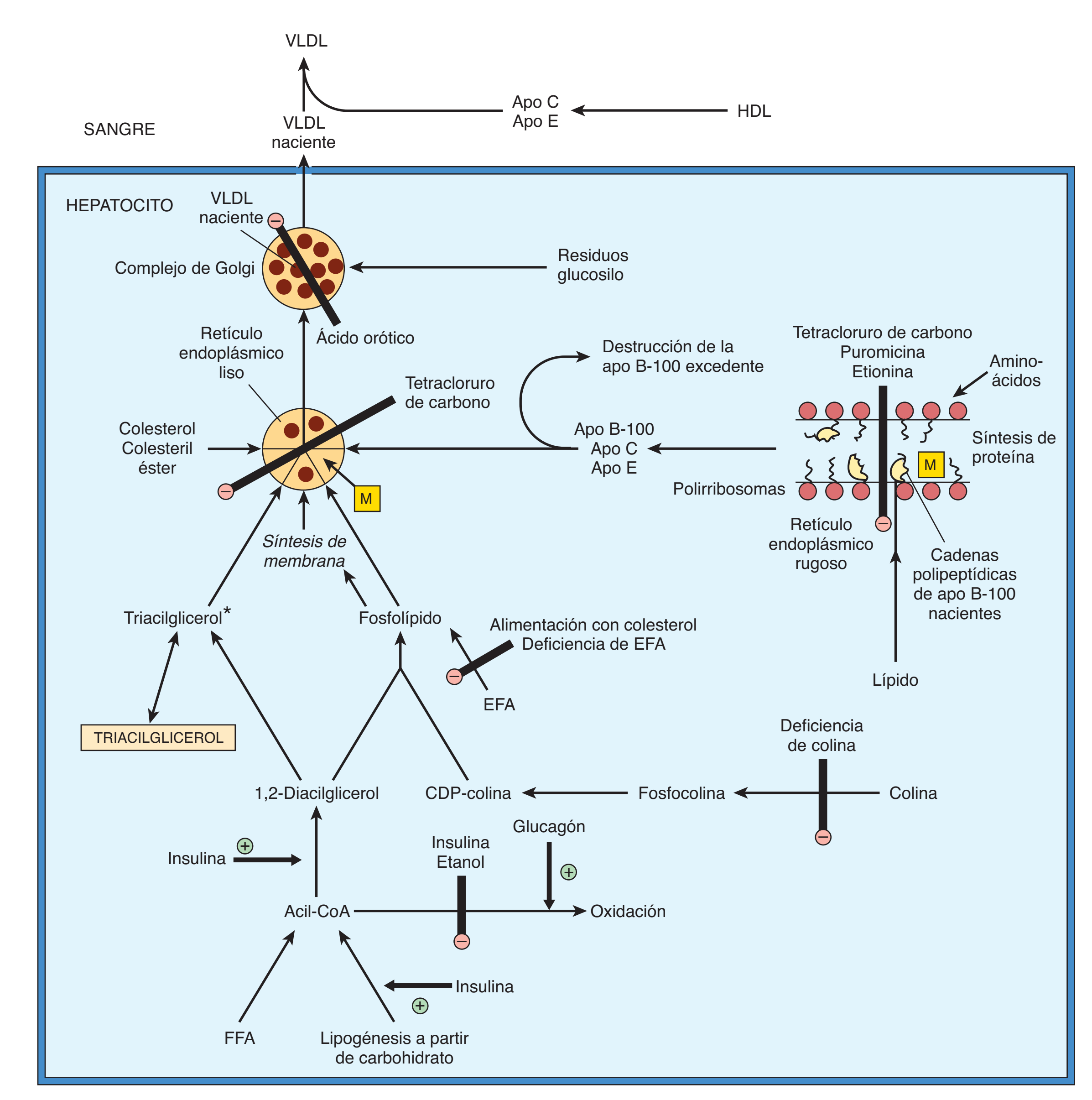


FIGURA 25–6 La síntesis de VLDL en hígado y los posibles lugares de acción de factores que ocasionan la acumulación de triacilglicerol e hígado graso. (EFA, ácidos grasos esenciales; FFA, ácidos grasos libres; HDL, lipoproteínas de alta densidad; Apo, apolipoproteína; M, proteína de transferencia de triacilglicerol microsómica.) Las vías indicadas forman una base para los eventos descritos en la figura 25-2. El principal fondo común de triacilglicerol en el hígado no está en la vía directa de síntesis de VLDL desde acil-CoA. Así, los FFA, la insulina y el glucagón tienen efectos inmediatos sobre la secreción de VLDL, puesto que sus efectos repercuten de modo directo sobre el pequeño fondo común de precursor de triacilglicerol*. En el estado por completo alimentado, la síntesis de apo B-100 excede los requerimientos para la secreción de VLDL y el excedente se destruye en el hígado. Durante la traducción de apo B-100, en el retículo endoplásmico rugoso, el transporte de lípido mediado por proteína de transferencia microsómica permite que el lípido se asocie con la cadena polipeptídica naciente. Luego de liberación desde los ribosomas, estas partículas se fusionan con más lípidos provenientes del retículo endoplásmico liso, lo que produce LDL naciente.

incrementa la necrosis hepática del tipo de hígado graso de deficiencia de colina. La vitamina E o una fuente de **selenio** añadida tiene un efecto protector al combatir la peroxidación lípida. Además de deficiencia de proteína, las deficiencias de ácido graso esencial y de vitamina (p. ej., ácido linoleico, piridoxina y ácido pantoténico) pueden producir infiltración adiposa del hígado.

El etanol también ocasiona hígado graso

El **hígado graso de origen alcohólico** es la primera etapa de la **hepatopatía alcohólica** que se produce por **alcoholismo** y por último produce **cirrosis**. La grasa se acumula en el hígado por una combinación de oxidación de ácidos grasos alterada y aumento de la lipogénesis, que se cree que se debe a cambios del potencial redox [NADH]/[NAD^+] en el hígado, y a interferencia con la acción de factores de transcripción que regulan la expresión de las enzimas comprendidas en las vías. La oxidación de etanol por la **alcohol deshidrogenasa** da pie a la producción excesiva de NADH, el cual compite con equivalentes reductores provenientes de otros sustratos, entre ellos ácidos grasos, por la cadena respiratoria; ello inhibe su oxidación y da por resultado incremento de la esterificación de ácidos grasos para formar triacilglicerol, lo que origina hígado graso. La oxidación del etanol lleva a la formación de acetaldehído, que es oxidado por la

aldehído deshidrogenasa, lo que produce acetato. La proporción [NADH]/[NAD$^+$] aumentada también origina incremento del (lactato)/(piruvato), lo que causa **hiperlacticacidemia**, que aminora la excreción de ácido úrico, lo cual agrava la **gota**.

ALCOHOL DESHIDROGENASA

$$CH_3-CH_2-OH \xrightarrow{NAD^+ \;\rightarrow\; NADH + H^+} CH_3-CHO$$

Etanol **Acetaldehído**

Algo del metabolismo de etanol tiene lugar por medio de un oxidante de etanol microsómico (MEOS) dependiente del citocromo P450, que comprende NADPH y O_2. La actividad de este sistema aumenta en el **alcoholismo crónico**, y puede explicar el incremento de la depuración metabólica en esta enfermedad. El etanol también inhibe el metabolismo de algunos fármacos, por ejemplo, barbitúricos, al competir por enzimas dependientes del citocromo P450.

MEOS

$$CH_3-CH_2-OH + NADPH + H^+ + O_2 \longrightarrow CH_3-CHO + NADP^+ + 2H_2O$$

Etanol **Acetaldehído**

En algunas poblaciones asiáticas y entre indios americanos, el consumo de alcohol suscita reacciones adversas aumentadas al acetaldehído debido a un defecto genético de la aldehído deshidrogenasa mitocondrial.

EL TEJIDO ADIPOSO ES LA PRINCIPAL RESERVA DE TRIACILGLICEROL EN EL CUERPO

Los triacilgliceroles se almacenan en el tejido adiposo en **gotitas de lípido** grandes, y están pasando de modo continuo por lipólisis (hidrólisis) y reesterificación (**figura 25-7**). Estos dos procesos son vías por completo diferentes que comprenden distintos reactivos y enzimas. Lo anterior permite que muchos factores nutricionales, metabólicos y hormonales regulen por separado los procesos de esterificación o lipólisis. El equilibrio entre estos dos procesos determina la magnitud del fondo común de FFA en el tejido adiposo que, a su vez, determina las cifras de FFA circulantes en plasma. Puesto que esta última tiene efectos más profundos sobre el metabolismo de otros tejidos, en particular el hígado y el músculo, los factores que operan en el tejido adiposo que regulan el flujo de salida de FFA ejercen una influencia más allá del tejido mismo.

El suministro de glicerol 3-fosfato regula la esterificación: la lipasa sensible a hormona controla la lipólisis

El triacilglicerol se sintetiza a partir de acil-CoA y glicerol 3-fosfato (figura 24-2). Dado que la enzima **glicerol cinasa** no se expresa en el tejido adiposo, el glicerol no puede utilizarse para el suministro de glicerol 3-fosfato, que debe obtenerse a partir de la glucosa mediante glucólisis.

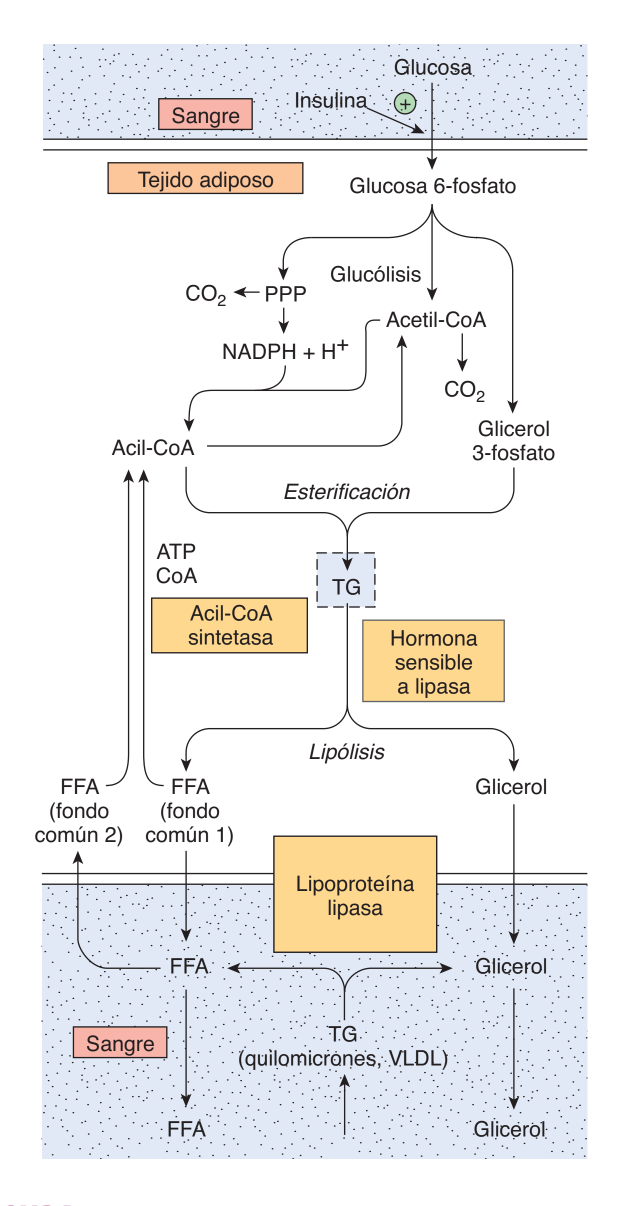


FIGURA 25–7 Metabolismo del triacilglicerol en el tejido adiposo. La lipasa sensible a hormona es activada por ACTH, TSH, glucagón, epinefrina, norepinefrina y vasopresina, e inhibida por insulina, prostaglandina E_1 y ácido nicotínico. Los detalles de la formación de glicerol 3-fosfato a partir de intermediarios de la glucólisis se muestran en la figura 24-2. (PPP, vía de la pentosa fosfato; TG, triacilglicerol; FFA, ácidos grasos libres; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad.)

El triacilglicerol pasa por hidrólisis por medio de una **lipasa sensible a hormona** para formar FFA y glicerol. Esta lipasa es distinta de la lipoproteína lipasa, que cataliza la hidrólisis de triacilglicerol de lipoproteína antes de su captación hacia tejidos extrahepáticos (véase antes). Puesto que el glicerol no puede utilizarse, entra en la sangre y es captado y transportado hacia tejidos como el hígado y los riñones, que poseen una glicerol cinasa activa. Los FFA formados mediante lipólisis pueden reconvertirse en el tejido adiposo hacia acil-CoA por la **acil-CoA sintetasa** y reesterificarse con glicerol 3-fosfato para formar triacilglicerol. Así, hay un **ciclo continuo de lipólisis y reesterificación dentro del tejido**. No obstante, cuando el índice de reesterificación no basta para igualar el índice de lipólisis, se acumulan FFA y se

difunden hacia el plasma, donde se unen a la albúmina e incrementan la concentración plasmática de FFA.

El metabolismo de glucosa aumentado reduce el gasto de FFA

Cuando hay incremento de la utilización de glucosa por el tejido adiposo, el flujo de salida de FFA disminuye. Sin embargo, la liberación de glicerol continúa, lo que demuestra que el efecto de la glucosa no está mediado por reducción del índice de lipólisis. El efecto se debe al suministro de glicerol 3-fosfato, que aumenta la esterificación de FFA. La glucosa puede tomar varias vías en el tejido adiposo, entre ellas oxidación hacia CO_2 por medio del ciclo del ácido cítrico, oxidación en la vía de la pentosa fosfato, conversión en ácidos grasos de cadena larga, y formación de acilglicerol mediante el glicerol 3-fosfato (figura 25-7). Cuando la utilización de glucosa es alta, una proporción más grande de la captación se oxida hacia CO_2, y se convierte en ácidos grasos. Empero, a medida que la utilización total de glucosa disminuye, la mayor proporción de la glucosa se dirige hacia la formación de glicerol 3-fosfato para la esterificación de acil-CoA, lo que ayuda a minimizar el flujo de salida de FFA.

LAS HORMONAS REGULAN LA MOVILIZACIÓN DE GRASA

La insulina inhibe la lipólisis en el tejido adiposo

El índice de liberación de FFA a partir del tejido adiposo está afectado por muchas hormonas que influyen sobre el índice de esterificación o el de lipólisis. La **insulina** inhibe la liberación de FFA a partir del tejido adiposo, lo cual va seguido por decremento de los FFA que circulan en el plasma. La insulina también incrementa la lipogénesis y la síntesis de acilglicerol, así como la oxidación de glucosa hacia CO_2 por medio de la vía de la pentosa fosfato. Todos estos efectos dependen de la presencia de glucosa y pueden explicarse, en gran medida, con base en la capacidad de la insulina para aumentar la captación de glucosa hacia las células adiposas mediante el **transportador GLUT 4**. La insulina también incrementa la actividad de las enzimas piruvato deshidrogenasa, acetil-CoA carboxilasa, y glicerol fosfato aciltransferasa, lo que refuerza los efectos de la captación aumentada de glucosa sobre el incremento de la síntesis de ácidos grasos y acilglicerol. Estas tres enzimas están reguladas de una manera coordinada por mecanismos de fosforilación-desfosforilación.

Una de las acciones principales de la insulina en el tejido adiposo consiste en inhibir la actividad de **lipasa sensible a hormona**, lo que disminuye la liberación no sólo de FFA sino también de glicerol. El tejido adiposo es considerablemente más sensible a la insulina que muchos otros tejidos, lo cual apunta al tejido adiposo como un sitio importante de acción de la insulina *in vivo*.

Varias hormonas promueven la lipólisis

Otras hormonas aceleran la liberación de FFA desde el tejido adiposo, e incrementan las cifras plasmáticas de FFA al aumentar el índice de lipólisis de las reservas de triacilglicerol (**figura 25-8**); incluyen **epinefrina**, **norepinefrina**, **glucagón**, **hormona adrenocorticotrópica (ACTH)**, **hormonas estimulantes de melanocitos (MSH) α y β**, **hormona estimulante de la tiroides (TSH)**, **hormona de crecimiento (GH)** y **vasopresina**. Muchas de éstas activan a la lipasa sensible a hormona. Para que el efecto sea óptimo, casi todos estos procesos lipolíticos necesitan la presencia de **glucocorticoides** y **hormonas tiroideas**. Estas hormonas actúan en una calidad **facilitadora** o **permisiva** en lo que se refiere a otros factores endocrinos lipolíticos.

Las hormonas que actúan con rapidez en la promoción de la lipólisis, esto es, las catecolaminas (epinefrina y norepinefrina), lo hacen al estimular la actividad de la **adenilil ciclasa**, la enzima que convierte el ATP en cAMP. El mecanismo es análogo al que se encarga de la estimulación hormonal de la glucogenólisis (cap. 19). El cAMP, al estimular la **proteína cinasa dependiente de cAMP**, activa a la lipasa sensible a hormona. De este modo, los procesos que destruyen el cAMP o que lo preservan influyen sobre la lipólisis. El cAMP se degrada hacia 5′-AMP por la enzima **3′,5′-nucleótido fosfodiesterasa cíclica**. Esta enzima es inhibida por metilxantinas como **cafeína** y **teofilina**. La **insulina** antagoniza el efecto de las hormonas lipolíticas. La lipólisis parece ser más sensible a cambios de la concentración de insulina que la utilización de glucosa y la esterificación. Los efectos antilipolíticos de la insulina, el ácido nicotínico y la prostaglandina E_1 se explican por inhibición de la síntesis de cAMP en el sitio de la adenilil ciclasa, actuando por medio de una proteína G_i. La insulina también estimula a la fosfodiesterasa y la lipasa fosfatasa que desactiva a la lipasa sensible a hormona. El efecto de la GH en la promoción de la lipólisis depende de la síntesis de proteínas comprendidas en la formación de cAMP. Los glucocorticoides promueven la lipólisis mediante la síntesis de nueva proteína lipasa por medio de una vía independiente de cAMP, que puede ser inhibida por la insulina, y al promover la transcripción de genes comprendidos en la cascada de señales del cAMP. Estos datos ayudan a explicar la participación de la hipófisis y de la corteza suprarrenal en el aumento de la movilización de grasa. El tejido adiposo secreta hormonas como **adiponectina**, que modula el metabolismo de glucosa y de lípido en el músculo y el hígado, y **leptina**, que regula la homeostasis de energía. Evidencia actual sugiere que el principal papel de la leptina en seres humanos es suprimir el apetito cuando la ingestión de alimentos es suficiente. Si hay carencia de leptina, la ingestión de alimentos puede ser incontrolada, y causar obesidad.

El sistema nervioso simpático, mediante liberación de norepinefrina en el tejido adiposo, tiene una participación fundamental en la movilización de FFA. De esta manera, el incremento de la lipólisis que se produce por muchos de los factores antes descritos se puede reducir o suprimir por desnervación del tejido adiposo o por bloqueo ganglionar.

La perilipina regula el equilibrio entre almacenamiento y lipólisis de triacilglicerol en adipocitos

La **perilipina**, una proteína comprendida en la formación de gotitas de lípido en adipocitos, inhibe la lipólisis en condiciones basales al impedir el acceso de las enzimas lipasas a los triacilgliceroles

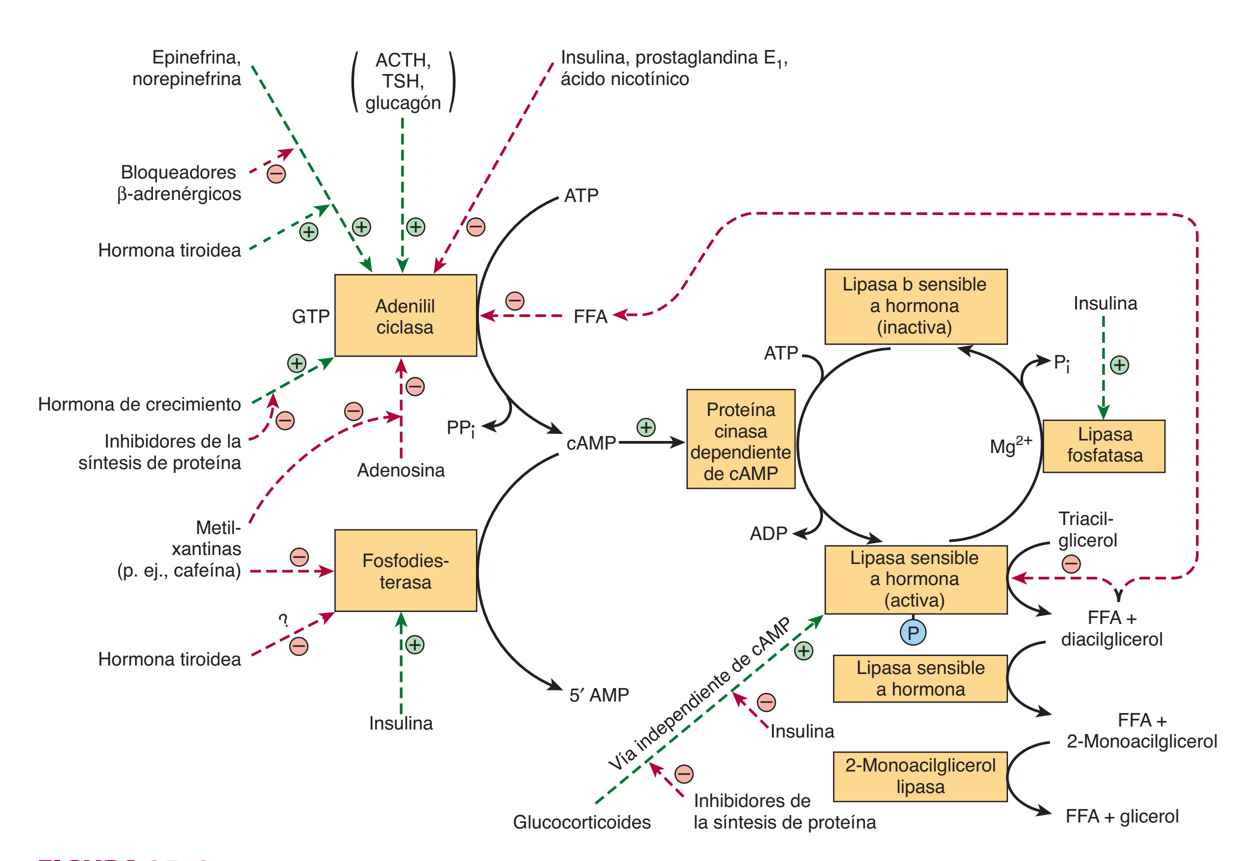


FIGURA 25–8 **Control de la lipólisis de tejido adiposo.** (TSH, hormona estimulante de la tiroides; FFA, ácidos grasos libres.) Note la secuencia de reacciones en cascada que permiten la amplificación en cada paso. El estímulo lipolítico se "desactiva" por eliminación de la hormona estimulante; la acción de la lipasa fosfatasa; la inhibición de la lipasa y la adenilil ciclasa por concentraciones altas de FFA; la inhibición de la adenilil ciclasa por la adenosina, y la eliminación de cAMP por la acción de la fosfodiesterasa. La ACTH, la TSH y el glucagón tal vez no activen la adenilil ciclasa *in vivo,* dado que las cifras de cada hormona requerida *in vitro* son considerablemente mayores que las que se encuentran en la circulación. Los efectos reguladores positivo (⊕) y negativo (⊖) están representados por líneas discontinuas y el flujo de sustrato por líneas continuas.

almacenados. Con todo, en el momento de la estimulación con hormonas que promueven la degradación de triacilglicerol, la proteína dirige la lipasa sensible a hormona hacia la superficie de gotitas de lípido y, así, promueve la lipólisis. Por ende, la perilipina permite que el almacenamiento y la desintegración de triacilglicerol estén coordinados de acuerdo con las necesidades metabólicas del cuerpo.

El tejido adiposo de seres humanos quizá no sea un sitio importante de lipogénesis

En el tejido adiposo no hay incorporación importante de glucosa o piruvato hacia ácidos grasos de cadena larga; la ATP-citrato liasa, una enzima clave en la lipogénesis, no parece estar presente y otras enzimas lipogénicas —por ejemplo, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y la enzima málica— no pasan por cambios adaptativos. De hecho, se ha sugerido que en seres humanos hay un **"síndrome de exceso de carbohidratos"** debido a una limitación singular de la capacidad para eliminar el exceso de carbohidrato por medio de lipogénesis. En aves, la lipogénesis está confinada al hígado, donde es en particular importante en el suministro de lípidos para la formación de huevos, estimulada por estrógenos.

EL TEJIDO ADIPOSO PARDO PROMUEVE LA TERMOGÉNESIS

El tejido adiposo pardo participa en el metabolismo, sobre todo en periodos en que se requiere generación de calor. De este modo, el tejido es en extremo activo en algunas especies, por ejemplo, durante el despertar que ocurre después de hibernación, en animales expuestos al frío (termogénesis sin estremecimiento), y en la producción de calor en el animal recién nacido. Aun cuando no es un tejido prominente en seres humanos, está presente en sujetos normales, donde podría ser la causa de **"termogénesis inducida por la dieta"**. Cabe hacer notar que el tejido adiposo pardo está reducido o no se encuentra en personas obesas. El tejido se caracteriza por un riego sanguíneo bien desarrollado y un contenido alto de mitocondrias y citocromos, pero actividad baja de ATP sintasa. El hincapié metabólico se hace en la oxidación tanto de glucosa como de ácidos grasos. La **norepinefrina** liberada a partir de terminaciones nerviosas simpáticas tiene importancia en el aumento de la lipólisis en el tejido y de la síntesis de lipoproteína lipasa para incrementar la utilización de lipoproteínas ricas en triacilglicerol desde la circulación. La oxidación y fosforilación no están acopladas en las mitocondrias de este tejido, y la fosforilación que ocurre es en el

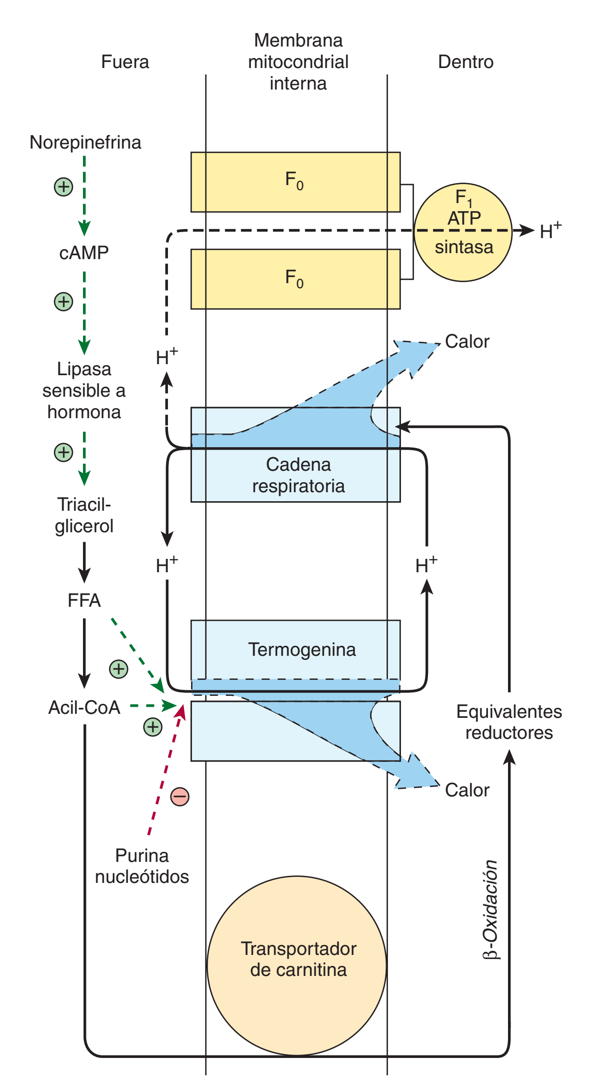


FIGURA 25–9 Termogénesis en el tejido adiposo pardo. La actividad de la cadena respiratoria produce calor además de translocar protones (cap. 13). Estos protones disipan más calor cuando son regresados hacia el compartimiento mitocondrial interno mediante la termogenina en lugar de por medio de la F_1 ATP sintasa, la ruta que genera ATP (fig. 13-7). El paso de H^+ mediante la termogenina es inhibido por purina nucleótidos cuando el tejido adiposo pardo no está estimulado. Bajo la influencia de la norepinefrina, la inhibición se elimina por la producción de FFA y acil-CoA. Note la función doble de la acil-CoA tanto en la facilitación de la acción de la termogenina como en el suministro de equivalentes reductores para la cadena respiratoria. ⊕ y ⊖ significan efecto regulador positivo o negativo.

ámbito de sustrato, por ejemplo, en el paso de la succinato tiocinasa y en la glucólisis. De esta manera, la **oxidación produce mucho calor, y poca energía libre es atrapada en ATP**. Una proteína desacopladora termógena, la **termogenina**, actúa como una vía de conductancia de protón que disipa el potencial electroquímico a través de la membrana mitocondrial (**figura 25-9**).

RESUMEN

- Dado que los lípidos no polares son insolubles en agua, para transporte entre los tejidos en el plasma sanguíneo acuoso se combinan con lípidos y proteínas anfipáticos para hacer lipoproteínas miscibles en agua.
- Se reconocen cuatro grupos principales de lipoproteínas: los quilomicrones transportan lípidos que se producen por la digestión y la absorción. Las VLDL transportan triacilglicerol desde el hígado; las LDL llevan colesterol a los tejidos y las HDL eliminan colesterol de los tejidos y lo regresan al hígado para excreción en el proceso conocido como transporte inverso de colesterol.
- Los quilomicrones y la VLDL se metabolizan mediante hidrólisis de su triacilglicerol, y quedan remanentes de lipoproteína en la circulación, los cuales son captados por el hígado, pero algunos de los remanentes (IDL) originados a partir de VLDL forman LDL, que es captada por el hígado y otros tejidos por medio del receptor de LDL.
- Las apolipoproteínas constituyen la porción proteína de lipoproteínas. Actúan como activadores de enzima (p. ej., apo C-II y apo A-I) o como ligandos para receptores celulares (p. ej., apo A-I, apo E y apo B-100).
- El triacilglicerol es el principal lípido de almacenamiento en el tejido adiposo. En el momento de la movilización, se liberan FFA y glicerol. Los FFA son una importante fuente de combustible.
- El tejido adiposo pardo es el sitio de “termogénesis sin estremecimiento”. Se encuentra en animales en hibernación y recién nacidos, y está presente en pequeña cantidad en seres humanos. La termogénesis se produce por la presencia de una proteína desacopladora, la termogenina, en la membrana mitocondrial interna.

REFERENCIAS

Arner P: Human fat cell lipolysis: biochemistry, regulation and clinical role. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2005;19:471.

Brasaemle DL: Thematic review series: adipocyte biology. The perilipin family of structural lipid droplet proteins: stabilization of lipid droplets and control of lipolysis. J Lipid Res 2007;48:2547.

Fielding CJ, Fielding PE: Dynamics of lipoprotein transport in the circulatory system. In *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes,* 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008;533–554.

Goldberg IJ, Merkel M: Lipoprotein lipase: physiology, biochemistry and molecular biology. Front Biosci 2001;6:D388.

Kershaw EE, Flier JS: Adipose tissue as an endocrine organ. J Clin Endocrinol Metab 2004;89:2548.

Lass A, Zimmermann R, Oberer M, et al: Lipolysis—a highly regulated multi-enzyme complex mediates the catabolism of cellular fat stores. Prog Lipid Res 2011;50:14.

Lenz A, Diamond FB: Obesity: the hormonal milieu. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes 2008;15:9.

Redgrave TG: Chylomicron metabolism. Biochem Soc Trans 2004;32:79.

Schreuder TC, Verwer BJ, van Nieuwkerk CM, et al: Nonalcoholic fatty liver disease: an overview of current insights in pathogenesis, diagnosis and treatment. World J Gastroenterol 2008;14:2474.

Sell H, Deshaies Y, Richard D: The brown adipocyte: update on its metabolic role. Int J Biochem Cell Biol 2004;36:2098.

Vance JE, Adeli K: Assembly and secretion of triacylglycerol-rich lipoproteins. In *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes,* 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008;507–532.

CAPÍTULO 26

Síntesis, transporte y excreción de colesterol

Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Apreciar la importancia del colesterol como un componente estructural esencial de las membranas celulares, y como un precursor de todos los otros esteroides en el organismo, e indicar su papel patológico en la enfermedad por cálculos biliares de colesterol y la aparición de aterosclerosis.
- Identificar las cinco etapas en la biosíntesis de colesterol a partir de la acetil-CoA.
- Entender el papel de la 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA reductasa (HMG-CoA reductasa) en el control de la tasa de síntesis de colesterol, y explicar los mecanismos mediante los cuales se regula su actividad.
- Apreciar que el equilibrio de colesterol en las células está estrechamente regulado, e indicar los factores involucrados en el mantenimiento del equilibrio correcto.
- Explicar el papel de las lipoproteínas plasmáticas, incluso quilomicrones, lipoproteína de muy baja densidad (VLDL), lipoproteína de baja densidad (LDL), y lipoproteína de alta densidad (HDL) en el transporte de colesterol entre los tejidos y el plasma.
- Nombrar los dos principales ácidos biliares primarios que se encuentran en mamíferos, esbozar las vías mediante las cuales se sintetizan a partir del colesterol en el hígado, y entender el papel de la colesterol 7α-hidroxilasa en la regulación del proceso.
- Apreciar la importancia de la síntesis de ácidos biliares no sólo en la digestión de grasas y la absorción de las mismas, sino también como una ruta excretora importante para el colesterol.
- Indicar de qué modo las bacterias intestinales producen ácidos biliares secundarios a partir de ácidos biliares primarios.
- Explicar qué significa "circulación enterohepática", y por qué es importante.
- Identificar los factores del estilo de vida que influyen sobre la concentración plasmática de colesterol y que, así, afectan el riesgo de cardiopatía coronaria.
- Entender que la clase de lipoproteína en la cual se transporta el colesterol tiene importancia en la determinación de los efectos del colesterol plasmático sobre la aparición de aterosclerosis; la concentración alta de VLDL o de LDL es perjudicial, y las cifras altas de HDL son beneficiosas.
- Dar ejemplos de enfermedades hereditarias y no hereditarias que afectan el metabolismo de lipoproteína y causan hipolipoproteinemia o hiperlipoproteinemia.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El **colesterol** está presente en los tejidos y en el plasma, sea como colesterol libre o combinado con un ácido graso de cadena larga como colesteril éster, la forma de almacenamiento. En el plasma, ambas formas se transportan en lipoproteínas (cap. 25). El colesterol es un lípido anfipático y, como tal, es un componente estructural esencial de las membranas, donde es importante para el mantenimiento de la permeabilidad y fluidez correctas, y de la capa externa de las lipoproteínas plasmáticas. Se sintetiza en muchos tejidos a partir de la acetil-CoA, y es el precursor de todos los otros esteroides en el organismo, incluso corticosteroides, hormonas sexuales, ácidos biliares y vitamina D. Como un producto típico del metabolismo en animales, el colesterol se encuentra en alimentos de origen animal, como yema de huevo, carne, hígado y cerebro. La **lipoproteína de baja densidad (LDL)** plasmática es el vehículo que aporta colesterol y colesteril éster hacia muchos tejidos. El colesterol libre se elimina de los tejidos por medio de la **lipoproteína de alta densidad (HDL)** plasmática, y se transporta hacia el hígado, donde se elimina del cuerpo, sea sin cambios o después de conversión en ácidos biliares en el proceso conocido como **transporte inverso de colesterol** (cap. 25). El colesterol es un constituyente importante de los **cálculos biliares**. Sin embargo, su principal participación en procesos patológicos es como un factor en la génesis de **aterosclerosis** de arterias vitales, lo que da por resultado enfermedad cerebrovascular, coronaria y vascular periférica.

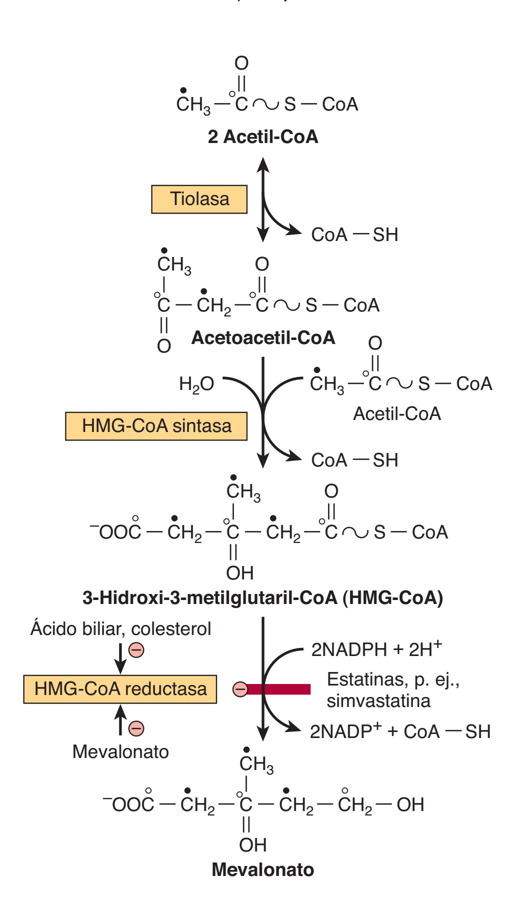


FIGURA 26–1 **Biosíntesis de mevalonato.** Las estatinas inhiben la HMG-CoA reductasa. Los círculos blancos y negros indican el destino de cada uno de los carbonos en la porción acetilo de la acetil-CoA.

EL COLESTEROL SE DERIVA CASI POR IGUAL DE LA DIETA Y DE BIOSÍNTESIS

Poco más de la mitad del colesterol del cuerpo surge por síntesis (alrededor de 700 mg/día), y el resto proviene de la dieta promedio. El hígado y el intestino dan cuenta de cerca de 10% cada uno de la síntesis total en seres humanos. Casi todos los tejidos que contienen células nucleadas tienen la capacidad de síntesis de colesterol, la cual ocurre en el retículo endoplásmico y los compartimientos citosólicos.

La acetil-CoA es la fuente de todos los átomos de carbono en el colesterol

La biosíntesis de colesterol se divide en cinco pasos: 1) síntesis de **mevalonato** a partir de acetil-CoA (**figura 26-1**). 2) La formación de **unidades isoprenoides** a partir del mevalonato por pérdida de CO_2 (**figura 26-2**). 3) La condensación de seis unidades isoprenoides forma **escualeno** (figura 26-2). 4) La ciclización de escualeno da lugar al esteroide madre, **lanosterol**. 5) Formación de colesterol a partir de lanosterol (**figura 26-3**).

Paso 1. Biosíntesis de mevalonato: la HMG-CoA (3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA) se forma por las reacciones que se usan en las mitocondrias para sintetizar cuerpos cetónicos (figura 22-7). Empero, dado que la síntesis de colesterol es extramitocondrial, las dos vías son diferentes. Al principio, dos moléculas de acetil-CoA se condensan para formar acetoacetil-CoA, lo cual es catalizado por la **tiolasa** citosólica. La acetoacetil-CoA se condensa con otra molécula de acetil-CoA, paso catalizado por la **HMG-CoA sintasa**, para formar HMG-CoA, a la cual el NADPH reduce a **mevalonato**, reacción catalizada por la **HMG-CoA reductasa**. Éste es el principal paso regulador en la vía de la síntesis de colesterol, y es el sitio de acción de la clase más eficaz de fármacos que disminuyen el colesterol, las estatinas, que son inhibidores de la HMG-CoA reductasa (figura 26-1).

Paso 2. Formación de unidades isoprenoides: el ATP fosforila de modo secuencial el mevalonato mediante tres cinasas y, luego de descarboxilación (figura 26-2), se forma la unidad isoprenoide activa, el **isopentenil difosfato**.

Paso 3. Seis unidades isoprenoides forman escualeno: el isopentenil difosfato es isomerizado mediante un desplazamiento del doble enlace para formar **dimetilalil difosfato**, que luego se condensa con otra molécula de isopentenil difosfato para formar el intermediario de 10 carbonos **geranil difosfato** (figura 26-2). Una condensación adicional con isopentenil difosfato forma **farnesil difosfato**. Dos moléculas de este último se condensan en el extremo difosfato para formar el **escualeno**. En un inicio se elimina el pirofosfato inorgánico, lo cual forma prescualeno difosfato, que luego se reduce mediante NADPH con eliminación de una molécula de pirofosfato inorgánico adicional.

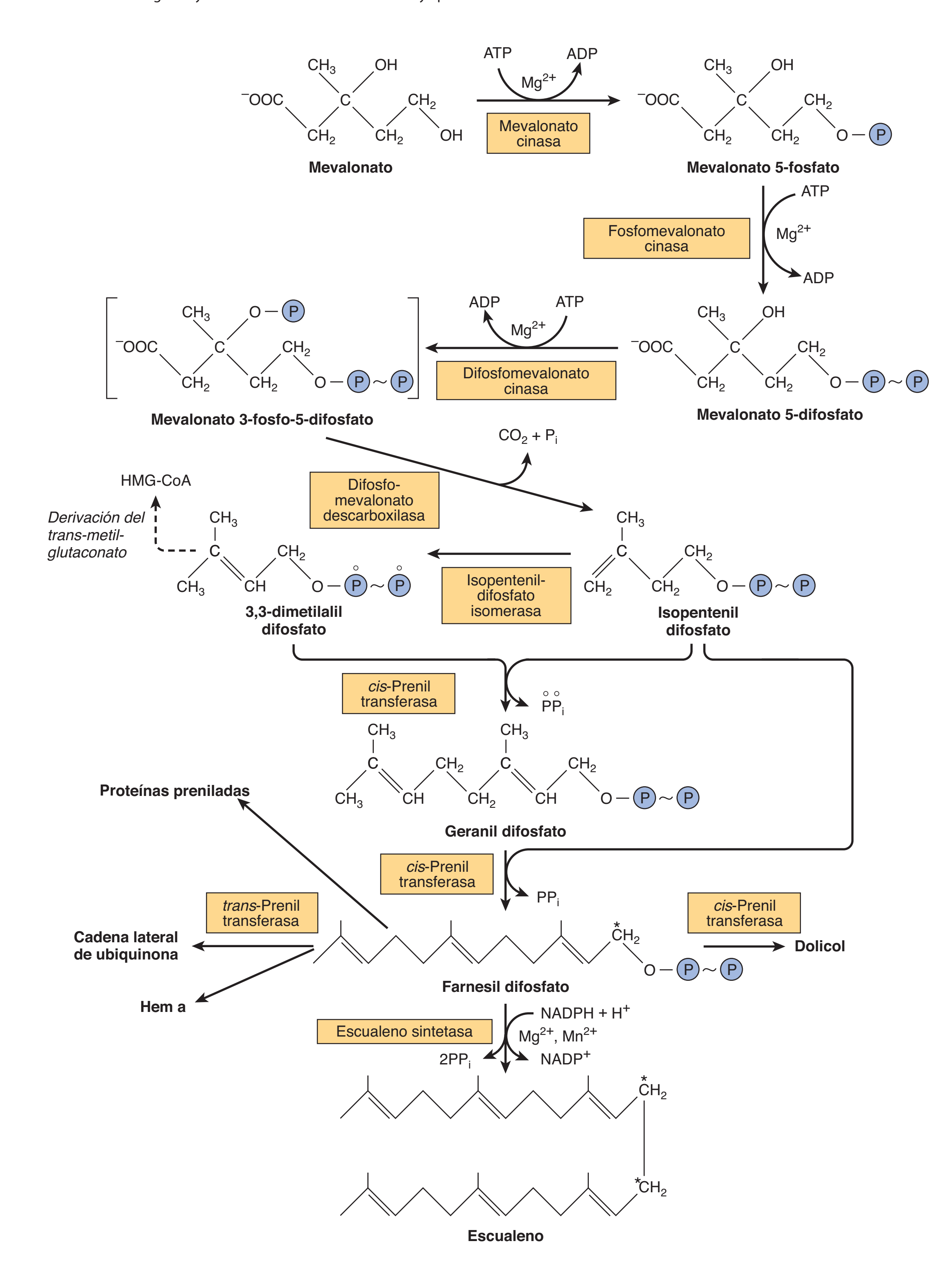


FIGURA 26–2 Biosíntesis de escualeno, ubiquinona, dolicol y otros derivados poliisopreno. (HMG-CoA, 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA.) Hay un residuo farnesilo en el hem a de la citocromo oxidasa. El carbono marcado con un asterisco se convierte en C_{11} o C_{12} en el escualeno. La escualeno sintetasa es una enzima microsómica; todas las otras enzimas indicadas son proteínas citosólicas solubles y algunas se encuentran en peroxisomas.

Paso 4. Formación de lanosterol: el escualeno puede plegarse hacia una estructura que semeja de manera estrecha el núcleo esteroide (figura 26-3). Antes de que se cierre el anillo, una oxidasa de función mixta en el retículo endoplásmico, la **escualeno epoxidasa**, convierte al escualeno en escualeno 2,3-epóxido. El grupo metilo en el C_{14} se transfiere hacia C_{13} y el grupo metilo en C_8 se transfiere a C_{14} conforme sucede ciclización, lo cual es catalizado por la **oxidoescualeno:lanosterol ciclasa**.

FIGURA 26–3 Biosíntesis de colesterol. Las posiciones numeradas son las del núcleo esteroide, y los círculos blancos y negros indican el destino de cada uno de los carbonos en la porción acetilo de la acetil-CoA. (*Véase el marcado del escualeno en la figura 26-2.)

Paso 5. Formación de colesterol: la formación de colesterol a partir de **lanosterol** tiene lugar en las membranas del retículo endoplásmico, e incluye cambios en el núcleo y la cadena lateral esteroides (figura 26-3). Los grupos metilo en C_{14} y C_4 se eliminan para formar 14-desmetil lanosterol y después zimosterol. El doble enlace en C_8-C_9 luego se mueve hacia C_5-C_6 en dos pasos, lo que forma **desmosterol**. Por último, el doble enlace de la cadena lateral se reduce, lo que genera colesterol.

El farnesil difosfato da lugar a dolicol y ubiquinona

Los poliisoprenoides **dolicol** (figura 15-20 y cap. 47) y **ubiquinona** (figura 13-5) se forman a partir del farnesil difosfato por medio de la adición de hasta 16 (dolicol) o 3 a 7 (ubiquinona) residuos isopentenil difosfato (figura 26-2). Algunas **proteínas de unión a GTP** en la membrana celular están preniladas con

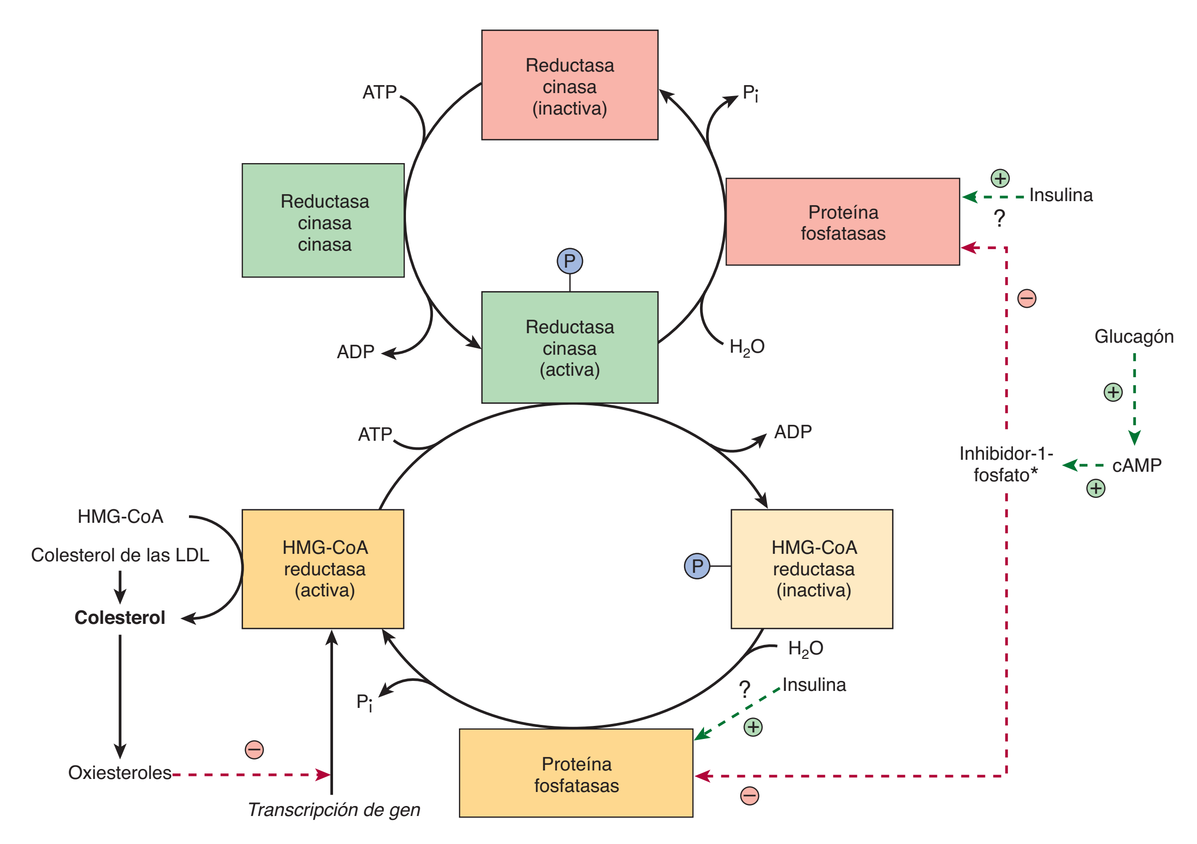


FIGURA 26–4 Posibles mecanismos en la regulación de la síntesis de colesterol por la HMG-CoA reductasa. La insulina tiene una participación dominante en comparación con el glucagón. (*Véase la figura 19-6.)

residuos farnesil o geranilgeranil (20 carbonos). Se cree que la **prenilación de proteína** facilita la fijación de proteínas en membranas lipoides, y quizá también participe en interacciones entre una proteína y otra, y en el tráfico de proteína relacionado con membrana.

LA REGULACIÓN DE LA HMG-CoA REDUCTASA CONTROLA LA SÍNTESIS DE COLESTEROL

La síntesis de colesterol se regula cerca del principio de la vía, en el paso de la HMG-CoA reductasa. La síntesis reducida de colesterol en animales en inanición se acompaña de un decremento de la actividad de la enzima. Sin embargo, el colesterol de la dieta sólo inhibe la síntesis hepática. La HMG-CoA reductasa en el hígado es inhibida por el mevalonato, el producto intermedio de la reacción, y por el colesterol, el principal producto de la vía. El colesterol y los metabolitos reprimen la transcripción de la HMG-CoA reductasa mediante activación de un factor de transcripción **proteína de unión a elemento regulador esterol (SREBP)**. Las SREBP son una familia de proteínas que regulan la transcripción de una gama de genes comprendidos en la captación y el metabolismo celulares de colesterol y otros lípidos: ocurre una **variación diurna** de la síntesis de colesterol y la actividad de reductasa. Además de estos mecanismos que regulan el índice de síntesis de proteína, la modificación postraduccional también modula con mayor rapidez la actividad enzimática (**figura 26-4**). La **insulina o** la **hormona tiroidea** aumenta la actividad de la HMG-CoA reductasa, mientras que el **glucagón** o los **glucocorticoides** la aminoran. Mecanismos de fosforilación-desfosforilación modifican de modo reversible la actividad; algunos de estos mecanismos pueden ser dependientes de cAMP y, en consecuencia, tienen capacidad de respuesta inmediata al glucagón. Los intentos por disminuir el colesterol plasmático en seres humanos al reducir la cantidad de colesterol en la dieta producen resultados variables. En general, un decremento de 100 mg del colesterol de la dieta origina una aminoración de alrededor de 0.13 mmol/L de suero.

MUCHOS FACTORES INFLUYEN SOBRE EL EQUILIBRIO DE COLESTEROL EN LOS TEJIDOS

En los tejidos, el equilibrio del colesterol se regula como sigue (**figura 26-5**): el incremento de colesterol en las células se debe a la captación de lipoproteínas que contienen colesterol por receptores, por ejemplo, el receptor de LDL o el receptor recolector, captación de colesterol libre desde lipoproteínas con alto contenido de colesterol hacia la membrana celular, la síntesis de colesterol, e hidrólisis de colesteril ésteres por la enzima **colesteril éster hidrolasa**. La disminución se debe a flujo de salida de colesterol desde la membrana hacia HDL por medio de ABCA1, ABCG1 o SR-B1 (figura 25-5). La esterificación de colesterol por **ACAT** (acil-CoA:colesterol aciltransferasa), y

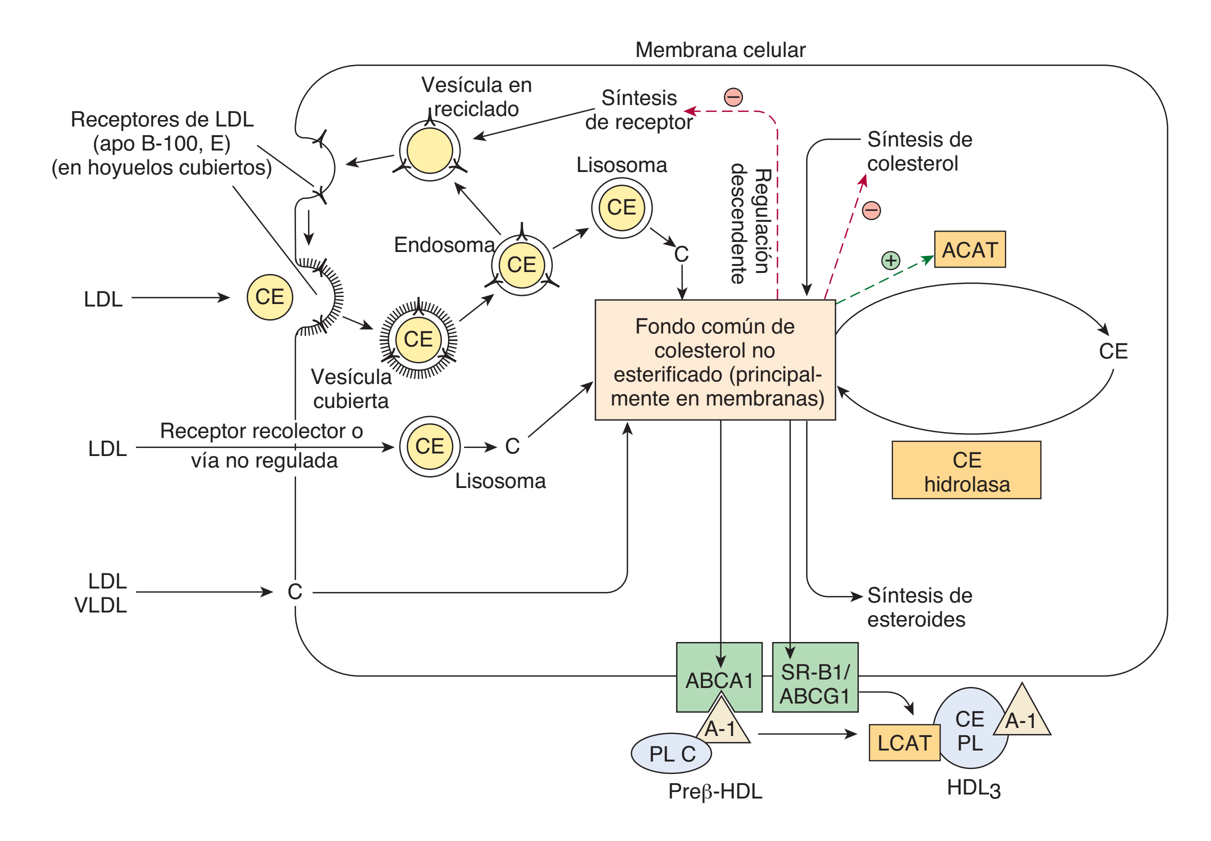


FIGURA 26–5 **Factores que afectan el equilibrio de colesterol en el ámbito celular.** El transporte inverso de colesterol puede estar mediado por la proteína transportadora ABCA-1 (con preβ-HDL como el aceptor exógeno) o el SR-B1 o ABCG-1 (con HDL_3 como el aceptor exógeno). (C, colesterol; CE, colesteril éster; PL, fosfolípido; ACAT, acil-CoA:colesterol aciltransferasa; LCAT, lecitina:colesterol aciltransferasa; A-I, apolipoproteína A-I; LDL, lipoproteína de baja densidad; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad.) La LDL y la HDL no se muestran a escala.

utilización de colesterol para la síntesis de otros esteroides, como hormonas, o ácidos biliares en el hígado.

El receptor de LDL está muy regulado

Los receptores de LDL (apo B-100, E) existen sobre la superficie celular en hoyuelos que están cubiertos sobre el lado citosólico de la membrana celular con una proteína denominada **clatrina**. El receptor de glucoproteína abarca la membrana; la región de unión B-100 está en el extremo amino terminal expuesto. Después de unión, la LDL es captada intacta mediante endocitosis. La apoproteína y el colesteril éster a continuación se hidrolizan en los lisosomas, y el colesterol se transloca hacia la célula. Los receptores se reciclan hacia la superficie celular. Este flujo hacia adentro de colesterol inhibe la transcripción de los genes que codifican para la HMG-CoA sintasa, la HMG-CoA reductasa y otras enzimas involucradas en la síntesis de colesterol, así como el receptor de LDL en sí, por medio de la vía de la SREBP y, así, de manera coordinada suprime la síntesis y captación de colesterol. Además, la actividad de la ACAT se estimula, lo que promueve la esterificación de colesterol. De este modo, la actividad del receptor de LDL sobre la superficie celular está regulada por el requerimiento de colesterol para síntesis de membranas, hormonas esteroides o ácidos biliares (figura 26-5).

EL COLESTEROL SE TRANSPORTA ENTRE TEJIDOS EN LIPOPROTEÍNAS PLASMÁTICAS

El colesterol se transporta en el plasma en lipoproteínas; la mayor parte en forma de colesteril éster (**figura 26-6**) y en seres humanos la proporción más alta se encuentra en la LDL. El colesterol en la dieta se equilibra con el colesterol plasmático en días y con el colesterol hístico en semanas. El colesteril éster en la dieta se hidroliza hacia colesterol, que a continuación se absorbe en el intestino junto con el colesterol no esterificado y otros lípidos de la dieta. Con el colesterol que se sintetiza en los intestinos, a continuación se incorpora hacia quilomicrones (cap. 25). Del colesterol absorbido, 80 a 90% se esterifica con ácidos grasos de cadena larga en la mucosa intestinal. Del colesterol de quilomicrón, 95% se lleva al hígado en remanentes de quilomicrón, y la mayor parte del colesterol secretado por el hígado en lipoproteína de muy baja densidad (VLDL) se retiene durante la formación de lipoproteína de densidad intermedia (IDL) y por último de LDL, que es captada por el receptor de LDL en el hígado y los tejidos extrahepáticos (cap. 25).

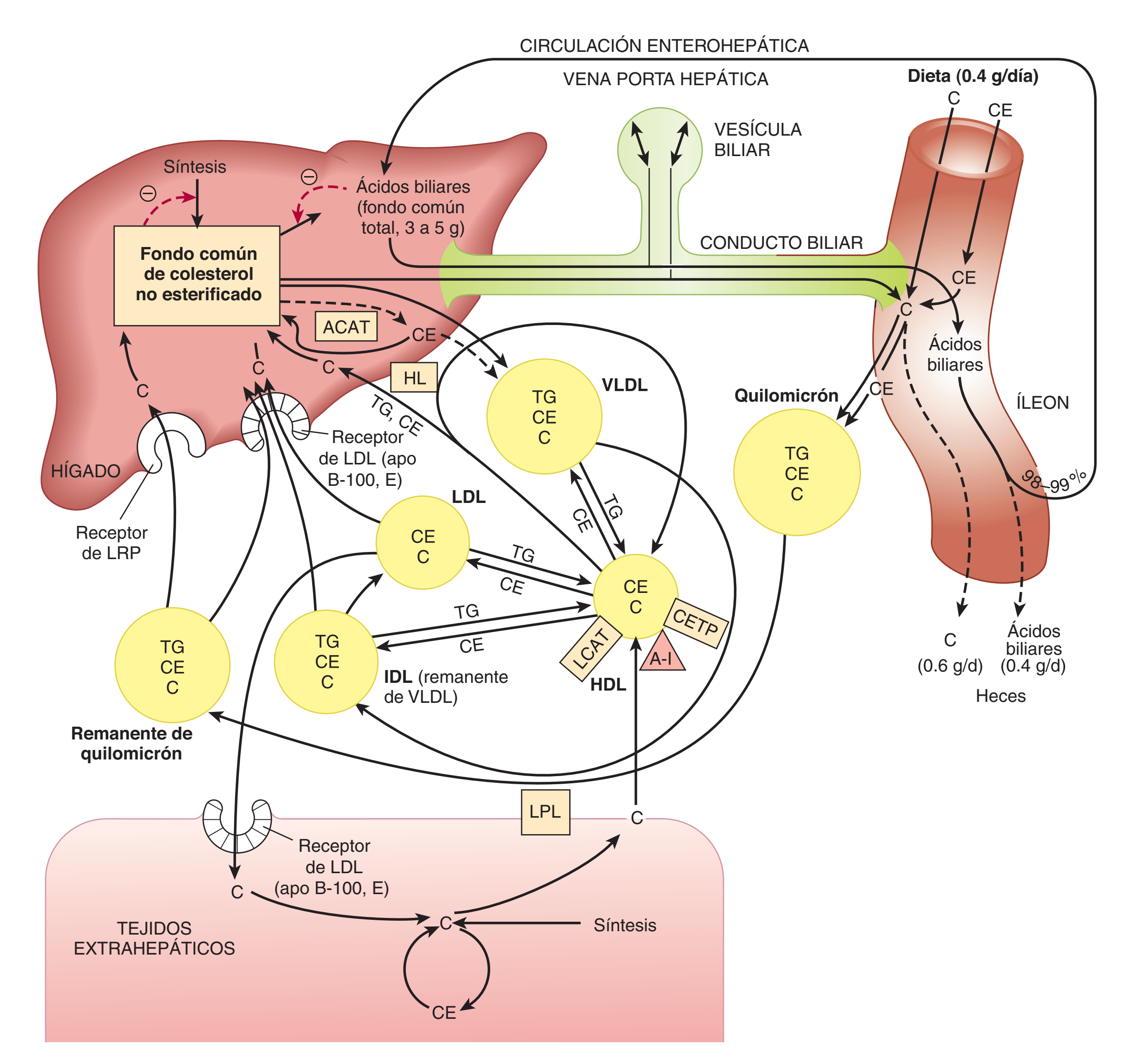


FIGURA 26–6 Transporte de colesterol entre los tejidos en seres humanos. (C, colesterol no esterificado; CE, colesteril éster; TG, triacilglicerol; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad; IDL, lipoproteína de densidad intermedia; LDL, lipoproteína de baja densidad; HDL, lipoproteína de alta densidad; ACAT, acil-CoA:colesterol aciltransferasa; LCAT, lecitina:colesterol aciltransferasa; A-I, apolipoproteína A-I; CETP, proteína de transferencia de colesteril éster; LPL, lipoproteína lipasa; HL, lipasa hepática; LRP, proteína relacionada con el receptor de LDL.)

Casi todo el colesteril éster plasmático en seres humanos depende de la LCAT plasmática

La actividad de la **lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT)** se relaciona con HDL que contiene apo A-I. A medida que el colesterol en HDL se esterifica, crea un gradiente de concentración e introduce colesterol desde los tejidos y desde otras lipoproteínas (figuras 26-5 y 26-6), lo que permite a la HDL funcionar en el **transporte inverso de colesterol** (figura 25-5).

La proteína de transferencia de colesteril éster facilita la transferencia de este último desde HDL hacia otras lipoproteínas

La **proteína de transferencia de colesteril éster**, relacionada con HDL, se encuentra en el plasma de seres humanos y muchas otras especies. Facilita la transferencia de colesteril éster desde HDL hacia VLDL, IDL y LDL en intercambio por triacilglicerol, lo que alivia la inhibición por producto de la actividad de LCAT en HDL. De esta manera, en seres humanos, gran parte del colesteril éster formado por LCAT encuentra su camino hacia el hígado mediante remanentes de VLDL (IDL) o LDL (figura 26-6). La HDL_2 enriquecida con triacilglicerol, lleva su colesterol hacia el hígado en el ciclo de la HDL (figura 25-5).

EL COLESTEROL SE EXCRETA DESDE EL CUERPO EN LA BILIS COMO COLESTEROL O ÁCIDOS (SALES) BILIARES

El colesterol se excreta del organismo por medio de la bilis sea en forma no esterificada o luego de conversión en ácidos biliares

en el hígado. El **coprostanol** es el principal esterol en las heces; las bacterias lo forman a partir del colesterol en la parte baja del intestino.

Los ácidos biliares se forman a partir de colesterol

Los **ácidos biliares primarios** se sintetizan en el hígado a partir de colesterol, se trata del **ácido cólico** (que se encuentra en la mayor cantidad) y el **ácido quenodesoxicólico** (**figura 26-7**). La 7α-hidroxilación de colesterol es el primer y principal paso regulador en la biosíntesis de ácidos biliares, y es catalizada por la **colesterol 7α-hidroxilasa**, una enzima microsómica. Una monooxigenasa típica, requiere oxígeno, NADPH y citocromo P450. Los pasos de hidroxilación subsiguientes también son catalizados por monooxigenasas. La vía de la biosíntesis de ácido biliar se divide en etapas tempranas hacia una subvía que lleva a **colil-CoA**, caracterizada por un grupo α-OH extra en la posición 12 y otra vía que lleva a **quenodesoxicolil-CoA** (figura 26-7). Una segunda vía en las mitocondrias que comprende la 27-hidroxilación de colesterol por la **esterol 27-hidroxilasa** como el primer paso explica una proporción importante de los ácidos biliares primarios sintetizados. Los ácidos biliares primarios (figura 26-7) entran a la bilis como conjugados de glicina o taurina. La conjugación tiene lugar en peroxisomas hepáticos. En seres humanos, la proporción entre conjugados de glicina y de taurina normalmente es de 3:1. En la bilis alcalina (pH de 7.6 a 8.4), se supone que los ácidos biliares y sus conjugados están en una forma de sal; de ahí el término "sales biliares".

Los ácidos biliares primarios se metabolizan más en el intestino mediante la actividad de las bacterias intestinales. Así, ocurren desconjugación y 7α-deshidroxilación, lo que produce los **ácidos biliares secundarios**, **ácido desoxicólico** y **ácido litocólico**.

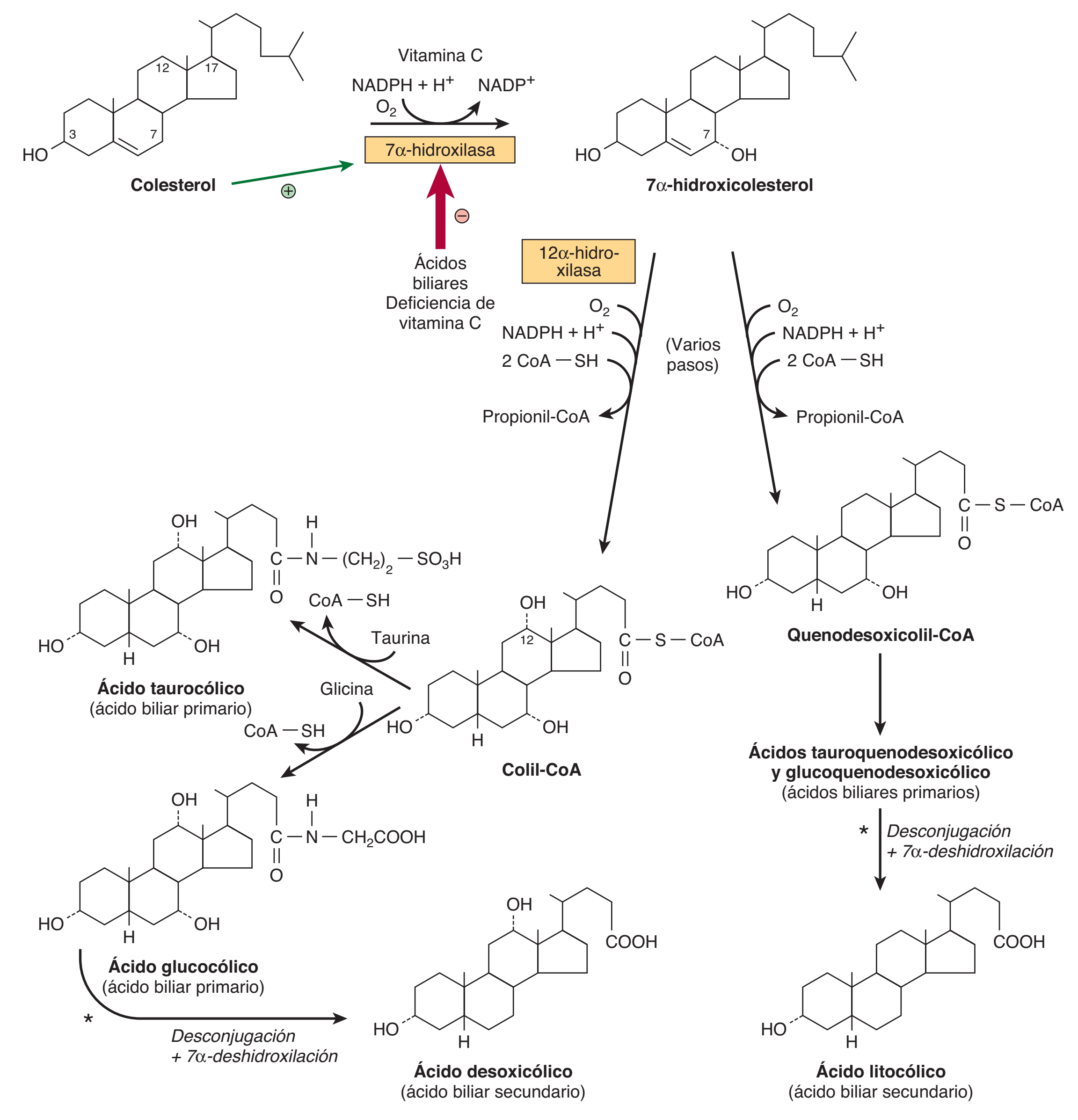


FIGURA 26–7 **Biosíntesis y degradación de ácidos biliares.** Una segunda vía en las mitocondrias comprende la hidroxilación de colesterol por la esterol 27-hidroxilasa. (*Catalizada por enzimas microbianas.)

Casi todos los ácidos biliares regresan al hígado en la circulación enterohepática

Aun cuando los productos de la digestión de grasa, incluso el colesterol, se absorben en los primeros 100 cm del intestino delgado, los ácidos biliares primarios y secundarios se absorben de modo casi exclusivo en el íleon, y 98 a 99% se regresa hacia el hígado por medio de la circulación porta. Esto se conoce como la **circulación enterohepática** (figura 26-6). Aun así, el ácido litocólico, debido a su insolubilidad, no se resorbe en un grado importante. Sólo una pequeña fracción de las sales biliares escapa a la absorción y, por ende, se elimina en las heces. Comoquiera que sea, esto representa una vía importante para la eliminación de colesterol. Cada día el pequeño fondo común de ácidos biliares (de 3 a 5 g) pasa 6 a 10 veces por un ciclo por el intestino, y una cantidad de ácido biliar equivalente a la que se pierde en las heces se sintetiza a partir de colesterol, de manera que se mantiene un fondo común de ácidos biliares de tamaño constante. Esto se logra mediante un sistema de controles por retroacción.

La síntesis de ácido biliar está regulada en el paso de la 7α-hidroxilasa

El principal paso limitante en la biosíntesis de ácidos biliares está en la **reacción de colesterol 7α-hidroxilasa** (figura 26-7). La actividad de la enzima está regulada por retroacción por medio del receptor de unión a ácido biliar nuclear **receptor X farnesoide (FXR)**. Cuando aumenta el tamaño del fondo común de ácidos biliares en la circulación enterohepática, el FXR se activa, y se suprime la transcripción del gen que codifica para la colesterol 7α-hidroxilasa. El ácido quenodesoxicólico tiene especial importancia en la activación del FXR. La actividad de la colesterol 7α-hidroxilasa también se incrementa por el colesterol de origen endógeno y de la dieta, y está regulada por insulina, glucagón, glucocorticoides y hormona tiroidea.

ASPECTOS CLÍNICOS

El colesterol sérico se correlaciona con la incidencia de aterosclerosis y cardiopatía coronaria

Si bien se cree que las concentraciones plasmáticas altas de colesterol (>5.2 mmol/L) son un factor importante en la promoción de la aterosclerosis, ahora se reconoce que los triacilgliceroles son un factor de riesgo independiente. La aterosclerosis se caracteriza por el depósito de colesterol y colesteril éster desde las proteínas plasmáticas hacia la pared arterial. Las enfermedades en las cuales hay incremento prolongado de las cifras de VLDL, IDL, remanentes de quilomicrón, o LDL en la sangre (p. ej., diabetes mellitus, nefrosis lípida, hipotiroidismo y otros estados de hiperlipidemia) suelen acompañarse de aterosclerosis prematura o más grave. También hay una relación inversa entre las concentraciones de HDL (HDL_2) y la cardiopatía coronaria, lo que hace que la **proporción de colesterol de LDL:HDL sea un buen parámetro predictivo**. Esto es congruente con la función de la HDL en el transporte inverso de colesterol. La susceptibilidad a aterosclerosis varía de manera significativa entre las especies, y los seres humanos son una de las pocas en las cuales la enfermedad se induce por dietas con alto contenido de colesterol.

La dieta puede tener importancia en la reducción del colesterol sérico

Los factores hereditarios tienen la función más importante en la determinación de las cifras de colesterol sérico individuales; de cualquier modo, también participan factores de la dieta y ambientales, y el más beneficioso de éstos es la sustitución de los ácidos grasos saturados en la dieta por **ácidos grasos poliinsaturados** y **monoinsaturados**. Los aceites vegetales, como el aceite de maíz y el aceite de semillas de girasol, contienen una proporción alta de ácidos grasos poliinsaturados, mientras que el aceite de oliva contiene una concentración alta de ácidos grasos monoinsaturados. Por otra parte, la grasa de la mantequilla, la grasa de la carne de res y el aceite de palma contienen una proporción alta de ácidos grasos saturados. La sacarosa y la fructosa tienen mayor efecto en el aumento de los lípidos en la sangre, en particular triacilgliceroles, que otros carbohidratos.

Aún no se entiende por completo el motivo del efecto de decremento del colesterol, de los ácidos grasos poliinsaturados. No obstante, está claro que uno de los mecanismos comprendidos es la regulación ascendente de los receptores de LDL por ácidos grasos poliinsaturados y monoinsaturados en comparación con los saturados, lo que causa un incremento del índice catabólico de LDL, la principal lipoproteína aterogénica. Más aún, los ácidos grasos saturados suscitan la formación de partículas de VLDL de menor tamaño que contienen relativamente más colesterol, así como los tejidos extrahepáticos, las utilizan a un índice más lento que las partículas de mayor tamaño, tendencias que pueden considerarse aterogénicas.

El estilo de vida afecta las cifras séricas de colesterol

Otros factores que se considera que participan en la cardiopatía coronaria son **presión arterial alta**, **tabaquismo**, **género masculino**, **obesidad (en especial obesidad abdominal)**, **falta de ejercicio** y **consumo de agua blanda en contraposición con dura**. Los factores relacionados con aumento de los FFA plasmáticos seguido por incremento del gasto de triacilglicerol y colesterol hacia la circulación en VLDL son el **estrés emocional** y el **consumo de café**. Las mujeres premenopáusicas parecen estar protegidas contra muchos de estos factores perjudiciales y se cree que esto se relaciona con los efectos beneficiosos de los **estrógenos**. Hay una relación entre el consumo moderado de alcohol y una incidencia más baja de cardiopatía coronaria. Esto tal vez se deba al aumento de las concentraciones de HDL producidas por incremento de la síntesis de apo A-I y cambios de la actividad de la proteína de transferencia de colesteril éster. Se ha afirmado que el vino tinto es en particular benéfico, quizá debido a su contenido de antioxidantes. El ejercicio regular aminora la LDL plasmática, pero aumenta la HDL. Las cifras de triacilglicerol también se reducen, debido más probablemente a incremento de la sensibilidad a la insulina, que aumenta la expresión de lipoproteína lipasa.

CUADRO 26–1 Trastornos primarios de lipoproteínas plasmáticas (dislipoproteinemias)

Nombre	Defecto	Observaciones
Hipolipoproteinemias Abetalipoproteinemia	No se forman quilomicrones, VLDL o LDL debido a defectos de la carga de apo B con lípido.	Es rara; acilgliceroles bajos en sangre; el intestino y el hígado acumulan acilgliceroles. Malabsorción intestinal. La muerte temprana es evitable por medio de administración de dosis grandes de vitaminas liposolubles, en especial vitamina E.
Deficiencia familiar de α-lipoproteína Enfermedad de Tangier Enfermedad de ojo de pescado Deficiencias de apo-A-I	En todas hay HDL baja o falta casi total de la misma.	Tendencia hacia hipertriacilglicerolemia como resultado de falta de apo C-II, que causa LPL inactiva. Cifras bajas de LDL. Aterosclerosis en ancianos.
Hiperlipoproteinemias Deficiencia familiar de lipoproteína lipasa (tipo I)	Hipertriacilglicerolemia debida a deficiencia de LPL, LPL anormal o deficiencia de apo C-II que produce LPL inactiva.	Depuración lenta de quilomicrones y VLDL. Concentraciones bajas de LDL y de HDL. No hay aumento del riesgo de coronariopatía.
Hipercolesterolemia familiar (tipo IIa)	Receptores de LDL defectuosos o mutación en la región ligando de apo B-100.	Cifras altas de LDL e hipercolesterolemia, que suscitan aterosclerosis y enfermedad coronaria.
Hiperlipoproteinemia familiar tipo III (enfermedad de beta amplia, enfermedad por eliminación de remanente, disbetalipoproteinemia familiar)	La deficiencia de la depuración de remanente por el hígado se debe a anormalidad de la apo E. Los pacientes carecen de isoformas E3 y E4, y sólo tienen E2, que no reacciona con el receptor E.[1]	Incremento de remanentes de quilomicrón y de VLDL de densidad <1.019 (β-VLDL). Produce hipercolesterolemia, xantomas y aterosclerosis.
Hipertriacilglicerolemia familiar (tipo IV)	Producción excesiva de VLDL a menudo relacionada con intolerancia a la glucosa e hiperinsulinemia.	Las concentraciones de colesterol aumentan con las cifras de VLDL. La LDL y la HDL tienden a ser subnormales. Este tipo de modelo por lo general se relaciona con cardiopatía coronaria, diabetes mellitus tipo 2, obesidad, alcoholismo y administración de hormonas progestacionales.
Hiperalfalipoproteinemia familiar	Incremento de las concentraciones de HDL.	Una enfermedad rara al parecer beneficiosa para la salud y la longevidad.
Deficiencia de lipasa hepática	La deficiencia de la enzima lleva a acumulación de remanentes de HDL y VLDL ricos en triacilglicerol.	Los enfermos tienen xantomas y cardiopatía coronaria.
Deficiencia familiar de lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT)	La falta de LCAT conduce a bloqueo del transporte inverso de colesterol. La HDL permanece como discos nacientes incapaces de captar colesterol y esterificarlo.	Las concentraciones plasmáticas de colesteril ésteres y lisolecitina son bajas. Hay una fracción de LDL anormal, lipoproteína X, que también se encuentra en individuos con colestasis. La VLDL es anormal (β-VLDL).
Exceso familiar de lipoproteína (a)	La Lp (a) consta de 1 mol de LDL fijo a 1 mol de apo (a). La apo (a) muestra homología estructural con el plasminógeno.	Cardiopatía coronaria prematura debida a aterosclerosis, más trombosis debida a inhibición de la fibrinólisis.

[1]Hay una relación entre sujetos que poseen el alelo de apo E4 y la incidencia de enfermedad de Alzheimer. Al parecer, la apo E4 se une con más avidez al β-amiloide que se encuentra en las placas neuríticas.

Cuando los cambios de la dieta fracasan, los medicamentos hipolipidémicos reducirán el colesterol y el triacilglicerol séricos

Una familia de fármacos conocidos como estatinas ha resultado muy eficaz para disminuir el colesterol plasmático y evitar enfermedad del corazón. Las estatinas actúan al inhibir la HMG-CoA reductasa y regular de modo ascendente la actividad del receptor de LDL. Los ejemplos en uso actual son **atorvastatina**, **simvastatina**, **fluvastatina** y **pravastatina**. La **ezetimiba** reduce las concentraciones sanguíneas de colesterol al inhibir la absorción de colesterol por el intestino al bloquear la captación mediante la **proteína parecida a la C1 de Niemann-Pick**. Otros medicamentos usados incluyen fibratos como el **clofibrato**, y el **gemfibrozil** y el **ácido nicotínico**, que actúan sobre todo para producir decremento de los triacilgliceroles plasmáticos al aminorar la secreción hepática de VLDL que contienen triacilglicerol y colesterol.

Los trastornos primarios de las lipoproteínas plasmáticas (dislipoproteinemias) son hereditarios

Los defectos hereditarios del metabolismo de lipoproteína conducen a la enfermedad primaria de **hipolipoproteinemia** o **hiperlipoproteinemia** (**cuadro 26-1**). Además, las enfermedades como la diabetes mellitus, el hipotiroidismo, la enfermedad

renal (síndrome nefrótico) y la aterosclerosis, se relacionan con modelos de lipoproteínas anormales secundarios que son muy similares a una u otra de las enfermedades hereditarias primarias. Casi todas las enfermedades primarias se deben a un defecto a una etapa de formación, transporte o destrucción de lipoproteína (figuras 25-4, 26-5 y 26-6). No todas las anormalidades son perjudiciales.

RESUMEN

- El colesterol es el precursor de todos los otros esteroides en el cuerpo, por ejemplo, corticosteroides, hormonas sexuales, ácidos biliares y vitamina D. También desempeña una función estructural importante en las membranas y en la capa externa de lipoproteínas.
- El colesterol se sintetiza en el organismo por completo a partir de la acetil-CoA. Tres moléculas de acetil-CoA forman mevalonato por medio de la importante reacción reguladora para la vía, catalizada por la HMG-CoA reductasa. A continuación se forma una unidad de isoprenoide de cinco carbonos y seis de éstas se condensan para formar escualeno; este último pasa por ciclos para formar el esteroide madre lanosterol, que después de la pérdida de tres grupos metilo y otros cambios, forma colesterol.
- La síntesis de colesterol en el hígado está regulada en parte por el colesterol en la dieta. En los tejidos, el equilibrio del colesterol se mantiene entre los factores que ocasionan ganancia de colesterol (p. ej., síntesis, captación mediante LDL o receptores recolectores) y los factores que dan por resultado pérdida de colesterol (p. ej., síntesis de esteroide, formación de colesteril éster, excreción). La actividad del receptor de LDL es modulada por las cifras celulares de colesterol para lograr este equilibrio. En el transporte inverso de colesterol, la HDL capta colesterol desde los tejidos, y la LCAT lo esterifica y deposita en el centro de las partículas. El colesteril éster en la HDL es captado por el hígado, sea de manera directa o luego de transferencia hacia VLDL, IDL o LDL por medio de la proteína de transferencia de colesteril éster.
- El colesterol excesivo se excreta desde el hígado en la bilis como colesterol o sales biliares. Una proporción grande de estas últimas se absorbe hacia la circulación porta y regresa hacia el hígado como parte de la circulación enterohepática.
- Las concentraciones altas de colesterol presentes en VLDL, IDL o LDL se relacionan con aterosclerosis, mientras que las cifras altas de HDL tienen un efecto protector.
- Los defectos hereditarios del metabolismo de lipoproteína dan pie a un estado primario de hipolipoproteinemia o hiperlipoproteinemia. Las enfermedades como la diabetes mellitus, el hipotiroidismo, la enfermedad renal y la aterosclerosis muestran modelos de lipoproteína anormales secundarios que semejan ciertas enfermedades primarias.

REFERENCIAS

Agellon LB: Metabolism and function of bile acids. In *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes,* 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008:423–440.

Chiang JL: Regulation of bile acid synthesis: pathways, nuclear receptors and mechanisms. J Hepatol 2004;40:539.

Denke MA: Dietary fats, fatty acids and their effects on lipoproteins. Curr Atheroscler Rep 2006;8:466.

Djoussé L, Gaziano JM: Dietary cholesterol and coronary disease risk: a systematic review. Curr Atheroscler Rep 2009;11:418.

Fernandez ML, West KL: Mechanisms by which dietary fatty acids modulate plasma lipids. J Nutr 2005;135:2075.

Jiang XC, Zhou HW: Plasma lipid transfer proteins. Curr Opin Lipidol 2006;17:302.

Liscum L: Cholesterol biosynthesis. In *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes,* 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008:399–422.

Ness GC, Chambers CM: Feedback and hormonal regulation of hepatic 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase: the concept of cholesterol buffering capacity. Proc Soc Exp Biol Med 2000;224:8.

Parks DJ, Blanchard SG, Bledsoe RK, et al: Bile acids: natural ligands for a nuclear orphan receptor. Science 1999;284:1365.

Perez-Sala D: Protein isoprenylation in biology and disease: general overview and perspectives from studies with genetically engineered animals. Front Biosci 2007;12:4456.

Preguntas de examen

Sección II

1. Varios compuestos inhiben la fosforilación oxidativa —la síntesis de ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico enlazada a la oxidación de sustratos en mitocondrias. ¿Cuál de los incisos que siguen describe la acción de la oligomicina?
   A. Descarga el gradiente de protón a través de la membrana mitocondrial interna.
   B. Descarga el gradiente de protón a través de la membrana mitocondrial externa.
   C. Inhibe la cadena de transporte de electrón directamente al unirse a uno de los transportadores de electrón en la membrana mitocondrial interna.
   D. Inhibe el transporte de ADP hacia la matriz mitocondrial, y el de ATP hacia fuera de esta última.
   E. Inhibe el transporte de protones de regreso hacia la matriz mitocondrial a través del tallo de la partícula primaria.

2. Varios compuestos inhiben la fosforilación oxidativa —la síntesis de ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico enlazada a la oxidación de sustratos en mitocondrias. ¿Cuál de los incisos que siguen describe la acción de un desacoplador?
   A. Descarga el gradiente de protón a través de la membrana mitocondrial interna.
   B. Descarga el gradiente de protón a través de la membrana mitocondrial externa.
   C. Inhibe la cadena de transporte de electrones directamente al unirse a uno de los transportadores de electrón en la membrana mitocondrial interna.
   D. Inhibe el transporte de ADP hacia la matriz mitocondrial, y de ATP hacia fuera de esta última.
   E. Inhibe el transporte de protones de regreso hacia la matriz mitocondrial a través del tallo de la partícula primaria.

3. Una estudiante toma algunas tabletas que le ofrecieron en una discoteca, y sin preguntar qué son, las deglute. Poco tiempo después empieza a hiperventilar, y su temperatura aumenta mucho. ¿Cuál es la acción más probable de las tabletas que ha tomado?
   A. Un inhibidor de la síntesis mitocondrial de ATP.
   B. Un inhibidor del transporte mitocondrial de electrones.
   C. Un inhibidor del transporte de ADP hacia las mitocondrias para ser fosforilado.
   D. Un inhibidor del transporte de ATP hacia fuera de las mitocondrias, hacia el citosol.
   E. Un desacoplador del transporte de electrones y de la fosforilación oxidativa mitocondriales.

4. AA consume una dieta muy mala, y toma dos botellas de vodka al día. Fue admitido a un hospital en coma. Está hiperventilando y tiene presión arterial baja y gasto cardiaco alto. Una radiografía de tórax muestra agrandamiento del corazón. Los análisis de laboratorio muestran que está sufriendo deficiencia de tiamina (vitamina B_1). ¿Cuál de las enzimas que siguen es más probable que esté afectada?
   A. Lactato deshidrogenasa.
   B. Piruvato carboxilasa.
   C. Piruvato descarboxilasa.
   D. Piruvato deshidrogenasa.
   E. Piruvato cinasa.

5. Al vigilar el control de la glucemia en pacientes diabéticos, la glucosa en orina o sangre puede medirse de dos maneras: químicamente usando un reactivo de cobre alcalino que detecta compuestos reductores, y bioquímicamente, usando la enzima glucosa oxidasa. En una serie de experimentos, se usaron ambos métodos en la misma muestra de orina; los resultados fueron positivos para el reactivo de cobre alcalino, y negativos usando glucosa oxidasa. ¿Cuál de los que siguen es el diagnóstico más probable para la persona en quien se están efectuando los análisis?
   A. Un diabético con buen control de la glucemia.
   B. Un diabético con control inadecuado de la glucemia.
   C. Una persona sana normal con ayuno de toda la noche.
   D. Una persona sana normal que acaba de comer.
   E. Una persona sana que tiene pentosuria esencial.

6. Un varón de 25 años de edad emprende un ayuno prolongado por razones religiosas. ¿Cuál de los metabolitos que siguen está alto en el plasma sanguíneo después de 24 h?
   A. Glucosa.
   B. Glucógeno.
   C. Cuerpos cetónicos.
   D. Ácidos grasos no esterificados.
   E. Triacilglicerol.

7. Un varón de 25 años de edad emprende un ayuno prolongado por razones religiosas. ¿Cuál de los metabolitos que siguen estará más alto en el plasma sanguíneo después de tres días?
   A. Glucosa.
   B. Glucógeno.
   C. Cuerpos cetónicos.
   D. Ácidos grasos no esterificados.
   E. Triacilglicerol.

8. Un varón de 25 años de edad visita a su médico general quejándose de cólicos abdominales y diarrea después de beber leche. ¿Cuál es la causa más probable de su problema?
   A. Sobrecrecimiento de bacterias y levaduras en el intestino grueso.
   B. Infección por el parásito intestinal *Giardia lamblia.*
   C. Carencia de amilasa pancreática.
   D. Carencia de lactasa en el intestino delgado.
   E. Carencia de sacarosa-isomaltasa en el intestino delgado.

9. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca del favismo (falta de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa) y la vía de la pentosa fosfato es CORRECTA?
   A. En el favismo los eritrocitos son más susceptibles al estrés oxidativo debido a falta de NADPH para la síntesis de ácidos grasos.
   B. Las personas que carecen de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa no pueden sintetizar ácidos grasos debido a falta de NADPH en el hígado y el tejido adiposo.
   C. La vía de la pentosa-fosfato es en especial importante en tejidos donde se están sintetizando ácidos grasos.

D. La vía de la pentosa-fosfato es la única fuente de NADPH para la síntesis de ácidos grasos.
E. La vía de la pentosa-fosfato proporciona una alternativa para la glucólisis sólo en el estado de ayuno.

10. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca de la síntesis de glucógeno y la utilización del mismo es CORRECTA?
A. El glucógeno se sintetiza en el hígado en el estado posprandial, y después se exporta hacia otros tejidos en lipoproteínas de baja densidad.
B. Las reservas de glucógeno en el hígado y el músculo satisfarán los requerimientos de energía durante varios días en ayuno prolongado.
C. El hígado sintetiza más glucógeno cuando la concentración de glucosa en sangre portal hepática es alta debido a la actividad de la glucocinasa en el hígado.
D. El músculo sintetiza glucógeno en el estado posprandial porque la glucógeno fosforilasa es activada en respuesta a la insulina.
E. La concentración plasmática de glucógeno aumenta en el estado posprandial.

11. En la glucólisis, la conversión de 1 mol de fructosa 1,6-bisfosfato en 2 mol de piruvato da lugar a la formación de:
A. 1 mol de NAD^+ y 2 mol de ATP.
B. 1 mol de NADH y 1 mol de ATP.
C. 2 mol de NAD^+ y 4 mol de ATP.
D. 2 mol de NADH y 2 mol de ATP.
E. 2 mol de NADH y 4 mol de ATP.

12. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca del metabolismo de ácidos grasos es CORRECTA?
A. Se forma acilcarnitina a partir de acil-CoA y carnitina en la cara interna de la membrana mitocondrial interna.
B. La acil-CoA sólo puede cruzar la membrana mitocondrial interna en intercambio por CoA libre que abandona la matriz mitocondrial.
C. La creatinina es esencial para el transporte de ácidos grasos hacia la matriz mitocondrial.
D. En el estado posprandial, la principal fuente de ácidos grasos para los tejidos es el triacilglicerol en quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL).
E. La β-oxidación de ácidos grasos ocurre en el citosol.

13. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca de la síntesis de grasas es CORRECTA?
A. El triacilglicerol sólo puede sintetizarse en tejido adiposo cuando está ocurriendo gluconeogénesis.
B. La síntesis de triacilglicerol en el tejido adiposo es estimulada cuando la proporción insulina/glucagón es baja.
C. La síntesis de triacilglicerol en el hígado sólo puede ocurrir cuando la glucólisis es activa.
D. El triacilglicerol se sintetiza a partir del glicerol 3-fosfato y acil-CoA en el tejido adiposo.
E. El triacilglicerol es sintetizado a partir de monoacilglicerol y acil-CoA en el tejido adiposo.

14. ¿Cuál de las lipoproteínas plasmáticas se describe mejor como sigue: se sintetiza en la mucosa intestinal, contiene una concentración alta de triacilglicerol, y es eliminada de la circulación principalmente por el tejido adiposo y el músculo?
A. Quilomicrones.
B. Lipoproteínas de alta densidad.
C. Lipoproteínas de densidad intermedia.
D. Lipoproteínas de baja densidad.
E. Lipoproteínas de muy baja densidad.

15. ¿Cuál de las lipoproteínas plasmáticas se describe mejor como sigue: se sintetiza en el hígado, contiene una concentración alta de triacilglicerol, y es eliminada de la circulación principalmente por el tejido adiposo y el músculo?
A. Quilomicrones.
B. Lipoproteínas de alta densidad.
C. Lipoproteínas de densidad intermedia.
D. Lipoproteínas de densidad baja.
E. Lipoproteínas de muy baja densidad.

16. ¿Cuál de las lipoproteínas plasmáticas se describe mejor como sigue: se forma en la circulación mediante la eliminación de triacilglicerol a partir de lipoproteínas de muy baja densidad, y contiene colesterol captado a partir de lipoproteínas de alta densidad, eliminada por el hígado?
A. Quilomicrones.
B. Lipoproteínas de alta densidad.
C. Lipoproteínas de densidad intermedia.
D. Lipoproteínas de baja densidad.
E. Lipoproteínas de muy baja densidad.

17. ¿Cuál de los que siguen estará alto en el torrente sanguíneo alrededor de 2 h después de consumir una comida con mucha grasa?
A. Quilomicrones.
B. Lipoproteínas de alta densidad.
C. Cuerpos cetónicos.
D. Ácidos grasos no esterificados.
E. Lipoproteínas de muy baja densidad.

18. ¿Cuál de los que siguen estará alto en el torrente sanguíneo unas 4 h después de consumir una comida con mucha grasa?
A. Quilomicrones.
B. Lipoproteínas de alta densidad.
C. Cuerpos cetónicos.
D. Ácidos grasos no esterificados.
E. Lipoproteínas de muy baja densidad.

19. Después de que son producidos a partir de la acetil-CoA en el hígado, los cuerpos cetónicos son usados principalmente ¿para cuál de los procesos que siguen?
A. Excreción como productos de desecho.
B. Generación de energía en el hígado.
C. Conversión en ácidos grasos para almacenamiento de energía.
D. Generación de energía en los tejidos.
E. Generación de energía en los eritrocitos.

20. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen respecto a la biosíntesis del colesterol es CORRECTA?
A. El paso limitante es la formación de 3-hidroxi 3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) por la enzima HMG-CoA sintasa.
B. La síntesis ocurre en el citosol de la célula.
C. Todos los átomos de carbono en el colesterol sintetizado se originan a partir de acetil-CoA.
D. El escualeno es el primer intermediario cíclico en la vía.
E. El sustrato inicial es el mevalonato.

21. La clase de fármacos llamados estatinas ha resultado ser muy eficaz contra la hipercolesterolemia, una causa importante de aterosclerosis y enfermedad cardiovascular asociada. Estos fármacos reducen la concentración plasmática de colesterol al:
A. Evitar la absorción de colesterol a partir del intestino.
B. Aumentar la excreción de colesterol desde el organismo por medio de la conversión en ácidos biliares.
C. Inhibir la conversión de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA en mevalonato en la vía de la biosíntesis de colesterol.

D. Aumentar la tasa de degradación de 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA reductasa.
E. Estimular la actividad del receptor de LDL en el hígado.

22. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca del cambio de energía libre (ΔG) en una reacción bioquímica es CORRECTA?
    A. Si ΔG es negativo, la reacción procede de manera espontánea con pérdida de energía libre.
    B. En una reacción exergónica, ΔG es positivo.
    C. El cambio de energía libre estándar cuando los reactantes están presentes en concentraciones de 1.0 mol/L y el pH es de 7.0 se representa como ΔG^0.
    D. En una reacción endergónica, ΔG es negativo.
    E. Si ΔG es de 0, la reacción es en esencia irreversible.

23. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca del ciclo del ácido cítrico es CORRECTA?
    A. Produce casi todo el ATP en organismos anaerobios.
    B. Oxida acetil-CoA derivada a partir de la oxidación de ácidos grasos.
    C. Proporciona acetil-CoA para la síntesis de ácidos grasos.
    D. Se lentifica cuando las cifras de energía son bajas.
    E. Proporciona ATP principalmente por fosforilación enlazada a sustrato.

24. ¿Cuál de los que siguen es el principal producto de la ácido graso sintasa?
    A. Acetil-CoA.
    B. Oleato.
    C. Palmitoil-CoA.
    D. Acetoacetato.
    E. Palmitato.

25. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen respecto a los quilomicrones es CORRECTA?
    A. Los quilomicrones son sintetizados dentro de células intestinales y secretados hacia la linfa, donde adquieren apolipoproteínas B y C.
    B. El centro de quilomicrones contiene triacilglicerol y fosfolípidos.
    C. La enzima lipasa sensible a hormona actúa sobre quilomicrones para liberar ácidos grasos a partir de triacilglicerol cuando están unidos a la superficie de células endoteliales en capilares sanguíneos.
    D. Los remanentes de quilomicrón difieren de los quilomicrones en que son de menor tamaño y contienen una proporción más baja de triacilglicerol.
    E. Los quilomicrones son captados por el hígado.

26. Por cada vuelta del ciclo del ácido cítrico, se forman tres moléculas de NADH y una molécula de $FADH_2$, y se oxidan mediante la cadena respiratoria, lo que produce:
    A. 10 moléculas de ATP.
    B. Cuatro moléculas de ATP.
    C. Nueve moléculas de ATP.
    D. Siete moléculas de ATP.
    E. 12 moléculas de ATP.

27. El sitio subcelular de la desintegración de ácidos grasos de cadena larga hacia la acetil-CoA por medio de β-oxidación es:
    A. El citosol.
    B. La matriz de las mitocondrias.
    C. El retículo endoplásmico.
    D. El espacio intermembrana mitocondrial.
    E. El aparato de Golgi.

28. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen respecto a moléculas de ácidos grasos es CORRECTA?
    A. Constan del grupo cabeza ácido carboxílico fijo a una cadena de carbohidratos.
    B. Se llaman poliinsaturados cuando contienen uno o más dobles enlaces carbono-carbono.
    C. Sus puntos de fusión aumentan con la insaturación creciente.
    D. Casi siempre tienen dobles enlaces en la configuración *cis* cuando ocurren de manera natural.
    E. Se encuentran en el organismo principalmente en forma de ácidos grasos libres (no esterificados).

29. En circunstancias normales, el flujo de electrones por la cadena respiratoria, y la producción de ATP, se encuentran estrechamente acoplados. ¿Por cuál de los que siguen son desacoplados los procesos?:
    A. Cianuro.
    B. Oligomicina.
    C. Termogenina.
    D. Monóxido de carbono.
    E. Sulfuro de hidrógeno.





Metabolismo de proteínas y aminoácidos

Biosíntesis de los aminoácidos no esenciales desde el punto de vista nutricional

CAPÍTULO 27

Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar por qué la falta de algunos aminoácidos en la dieta no es perjudicial para la salud de seres humanos.
- Apreciar la distinción entre aminoácidos "esenciales" y "nutricionalmente esenciales", e identificar los aminoácidos que son nutricionalmente no esenciales.
- Nombrar el ciclo del ácido cítrico y los intermediarios glucolíticos que son precursores de aspartato, asparagina, glutamato, glutamina, glicina y serina.
- Apreciar el papel clave de las transaminasas en el metabolismo de aminoácidos.
- Explicar el proceso mediante el cual se forman la hidroxiprolina e hidroxilisina de proteínas.
- Proporcionar una explicación bioquímica de por qué una privación grave de vitamina C (ácido ascórbico) da lugar a la enfermedad nutricional escorbuto, y describir las consecuencias clínicas de este trastorno nutricional.
- Apreciar que, a pesar de la toxicidad del selenio, la selenocisteína es un componente esencial de varias proteínas de mamífero.
- Esbozar la reacción catalizada por una oxidasa de función mixta.
- Identificar el papel de la tetrahidrobiopterina en la biosíntesis de tirosina.
- Indicar el papel de un tRNA modificado en la inserción cotraduccional de selenocisteína hacia proteínas.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las inferencias médicas del material que se presenta en este capítulo se relacionan con los estados de deficiencia de aminoácidos que pueden producirse si faltan aminoácidos esenciales en la dieta, o si están presentes en cantidades inadecuadas. Los estados de deficiencia de aminoácidos endémicos en ciertas regiones de África occidental incluyen **kwashiorkor**, que sobreviene cuando se desteta a un niño y se le suministra una dieta farinácea con poca proteína, y el **marasmo**, en el cual tanto la ingestión calórica como aminoácidos específicos son deficientes. Los individuos con síndrome de intestino corto que carecen de la capacidad para absorber suficientes cantidades de calorías y nutrientes sufren anormalidades nutricionales y metabólicas importantes. Tanto el trastorno nutricional **escorbuto**, una deficiencia de vitamina C en la dieta, como trastornos genéticos específicos, se relacionan con alteración de la capacidad del tejido conjuntivo para formar hidroxiprolina e hidroxilisina. La inestabilidad conformacional resultante del colágeno origina sangrado de encías, hinchazón de articulaciones, cicatrización inadecuada de heridas y por último la muerte. El **síndrome de Menkes**, que se caracteriza por pelo rizado y retraso del crecimiento, depende de una deficiencia de cobre en la dieta, que es un cofactor esencial para la lisil oxidasa, una enzima que funciona en la formación de

los enlaces covalentes que fortalecen las fibras de colágeno. Los trastornos genéticos de la biosíntesis del colágeno comprenden varias formas de **osteogénesis imperfecta**, caracterizada por huesos frágiles, y **síndrome de Ehlers-Danlos**, un grupo de trastornos del tejido conjuntivo que suscitan aumento exagerado de la movilidad articular y anormalidades cutáneas debidas a defectos de los genes que codifican para enzimas que incluyen la lisil hidroxilasa.

AMINOÁCIDOS ESENCIALES Y NO ESENCIALES EN EL ASPECTO NUTRICIONAL

Aplicados a los aminoácidos, los términos "esencial" y "no esencial" son desorientadores, porque los 20 aminoácidos comunes son esenciales para asegurar la salud. De estos 20 aminoácidos, ocho *deben estar presentes* en la dieta del ser humano y, así, es mejor llamarlos "*esenciales desde el punto de vista nutricional*"; los otros 12 son "*no esenciales en el aspecto nutricional*" porque no requieren estar presentes en la dieta (**cuadro 27-1**). La distinción entre estas dos clases de aminoácidos se estableció durante el decenio de 1930-1939 al alimentar a individuos humanos con aminoácidos purificados en lugar de proteína. Investigaciones bioquímicas subsiguientes revelaron las reacciones y los intermediarios comprendidos en la biosíntesis de los 20 aminoácidos. Los trastornos por deficiencia de aminoácidos son endémicos en ciertas regiones de África occidental donde las dietas dependen mucho de cereales que son fuentes poco adecuadas de triptófano y lisina. Estos trastornos nutricionales comprenden kwashiorkor, que se produce cuando se retira el seno materno a un niño y se le suministra una dieta feculenta con poca proteína, y marasmo, en el cual hay deficiencia tanto de la ingestión calórica como de aminoácidos específicos.

Vías metabólicas largas forman los aminoácidos esenciales desde el punto de vista nutricional

La existencia de requerimientos nutricionales sugiere que la dependencia de un aporte externo de un nutriente dado puede tener mayor valor para la supervivencia que la capacidad para biosintetizarlo. ¿Por qué? Si un nutriente específico está presente en el alimento, un organismo que puede sintetizarlo transferirá a su progenie información genética de valor *negativo* acerca de supervivencia. El valor respecto a supervivencia es negativo en lugar de nulo porque se necesitan ATP y nutrientes para sintetizar DNA "innecesario", incluso si genes codificados específicos ya no se expresan. El número de enzimas que las células procarióticas requieren para sintetizar los aminoácidos esenciales en el aspecto nutricional es grande en comparación con el número de enzimas requeridas para sintetizar los aminoácidos no esenciales desde el punto de vista nutricional (**cuadro 27-2**). Esto sugiere una ventaja en cuanto a supervivencia al retener la capacidad para fabricar aminoácidos "fáciles" mientras que se pierde la capacidad para hacer aminoácidos "difíciles". Las vías metabólicas que forman los aminoácidos nutricionalmente esenciales se encuentran en vegetales y bacterias, pero no en seres humanos, de modo que no se abordan aquí. En este capítulo se estudian las reacciones y los intermediarios involucrados en la biosíntesis por tejidos humanos de los 12 aminoácidos *no esenciales* desde el punto de vista nutricional, y trastornos nutricionales y metabólicos seleccionados relacionados con su metabolismo.

CUADRO 27–1 Requerimientos de aminoácidos de seres humanos

Esencial desde el punto de vista nutricional	No esencial en el aspecto nutricional
Arginina[1]	Alanina
Histidina	Asparagina
Isoleucina	Aspartato
Leucina	Cisteína
Lisina	Glutamato
Metionina	Glutamina
Fenilalanina	Glicina
Treonina	Hidroxiprolina[2]
Triptófano	Hidroxilisina[2]
Valina	Prolina
	Serina
	Tirosina

[1]"Semiesencial" desde el punto de vista nutricional. Es sintetizada a índices inadecuados durante el crecimiento de los niños.
[2]No se requiere para la síntesis de proteína, pero se forma durante el procesamiento postraduccional de colágeno.

CUADRO 27–2 Enzimas requeridas para la síntesis de aminoácidos a partir de intermediarios anfibólicos

Número de enzimas requeridas para sintetizar			
Esencial en el aspecto nutricional		No esencial desde el punto de vista nutricional	
Arg[1]	7	Ala	1
His	6	Asp	1
Tre	6	Asn[2]	1
Met	5 (4 compartido)	Glu	1
Lis	8	Gln[1]	1
Ile	8 (6 compartido)	Hil[3]	1
Val	1 (7 compartido)	Hip[4]	1
Leu	3 (7 compartido)	Pro[1]	3
Fen	10	Ser	3
Trp	5 (8 compartido)	Gli[5]	1
	59	Cis[6]	2
		Tir[7]	1
			17

[1]A partir de Glu. [2]A partir de Asp. [3]A partir de Lis. [4]A partir de Pro. [5]A partir de Ser. [6]A partir de Ser más S^{2-}. [7]A partir de Fe.

FIGURA 27–1 **Reacción de la glutamato deshidrogenasa.**

FIGURA 27–3 **Formación de alanina por transaminación de piruvato.** El donador de amino puede ser glutamato o aspartato. De esta manera, el otro producto es α-cetoglutarato u oxaloacetato.

BIOSÍNTESIS DE LOS AMINOÁCIDOS NUTRICIONALMENTE NO ESENCIALES

Glutamato

La primera reacción en la biosíntesis de la "familia glutamato" de aminoácidos es la amidación reductiva de α-cetoglutarato catalizada por la glutamato deshidrogenasa (**figura 27-1**). La reacción se muestra como unidireccional en la dirección de la síntesis de glutamato porque la reacción favorece fuertemente el glutamato. Esto tiene importancia fisiológica porque la concentración alta de ion amonio es citotóxica.

Glutamina

La amidación de glutamato hacia glutamina catalizada por la glutamina sintetasa comprende la formación intermedia de γ-glutamil fosfato (**figura 27-2**). Después de la unión ordenada de glutamato y ATP, el glutamato ataca el γ-fósforo del ATP, lo que forma γ-glutamil fosfato y ADP. A continuación se une el NH_4^+ y, al igual que el NH_3^+, ataca al γ-glutamil fosfato para formar un intermediario tetraédrico. La liberación de P_i y de un protón desde el grupo γ-amino del intermediario tetraédrico entonces facilita la liberación del producto, glutamina.

Alanina y aspartato

La transaminación de piruvato forma alanina (**figura 27-3**). De modo similar, la transaminación del oxaloacetato forma aspartato.

La glutamato deshidrogenasa, glutamina sintetasa y aminotransferasas desempeñan funciones fundamentales en la biosíntesis de aminoácidos

La acción combinada de las enzimas glutamato deshidrogenasa, glutamina sintetasa y las aminotransferasas (figuras 27-1, 27-2 y 27-3) convierte ion amonio inorgánico en el nitrógeno α-amino de los aminoácidos.

Asparagina

La conversión de aspartato en asparagina, catalizada por la asparagina sintetasa (**figura 27-4**), semeja la reacción de la glutamina sintetasa (figura 27-2), pero la glutamina, más que el ion amonio, proporciona el nitrógeno. Sin embargo, las asparagina sintetasas bacterianas también pueden usar ion amonio. La reacción involucra la formación intermedia de aspartil fosfato. La hidrólisis acoplada de PP_i hacia P_i por la pirofosfatasa asegura que la reacción se vea favorecida con fuerza.

Serina

La oxidación del grupo α-hidroxilo del intermediario glucolítico 3-fosfoglicerato por la 3-fosfoglicerato deshidrogenasa, lo convierte en 3-fosfohidroxipiruvato. La transaminación y la desfosforilación subsiguiente a continuación forman serina (**figura 27-5**).

Glicina

Las glicina aminotransferasas pueden catalizar la síntesis de glicina a partir de glioxilato y glutamato o alanina. Al contrario de

FIGURA 27–2 **Reacción de la glutamina sintetasa.**

FIGURA 27–4 **La reacción de la asparagina sintetasa.** Note las similitudes y las diferencias con la reacción de la glutamina sintetasa (figura 27-2).

FIGURA 27–5 Biosíntesis de serina. (α-AA, α-aminoácidos; α-KA, α-cetoácidos.)

FIGURA 27–7 La reacción de serina hidroximetiltransferasa. La reacción es libremente reversible (H_4 folato, tetrahidrofolato).

casi todas las reacciones de aminotransferasa, éstas favorecen con fuerza la síntesis de glicina. En mamíferos, otras vías importantes para la formación de glicina son a partir de colina (**figura 27-6**) y de serina (**figura 27-7**).

Prolina

La reacción inicial de la biosíntesis de prolina convierte el grupo γ-carboxilo del glutamato en el anhídrido ácido mixto de glutamato γ-fosfato (**figura 27-8**). La reducción subsiguiente forma glutamato γ-semialdehído, que después de ciclización espontánea es reducido a L-prolina.

FIGURA 27–6 Formación de glicina a partir de colina. Las enzimas que catalizan las reacciones mostradas son la colina deshidrogenasa, betaína deshidrogenasa, betaína-homocisteína *N*-metiltransferasa, sarcosina desmetilasa y sarcosina oxidasa, respectivamente.

FIGURA 27–8 Biosíntesis de prolina a partir de glutamato. Los catalíticos para estas reacciones son la glutamato 5-cinasa, la glutamato semialdehído deshidrogenasa, cierre de anillo no catalizado y pirrolina 5-carboxilato reductasa.

FIGURA 27–9 Conversión de homocisteína y serina en homoserina y cisteína. El azufre de la cisteína se deriva de la metionina, y el esqueleto de carbono, de la serina.

FIGURA 27–10 La reacción de la fenilalanina hidroxilasa. Hay dos actividades enzimáticas distintas involucradas. La actividad II cataliza la reducción de la dihidrobiopterina por el NADPH, y la actividad I la reducción de O_2 hacia H_2O y de fenilalanina a tirosina. Esta reacción se relaciona con varios defectos del metabolismo de la fenilalanina que se comentan en el capítulo 29.

Cisteína

Si bien no es esencial desde el punto de vista nutricional, la cisteína se forma a partir de metionina, que sí lo es. Luego de conversión de metionina en homocisteína (figura 29-19), la homocisteína y la serina forman cistationina, cuya hidrólisis forma cisteína y homoserina (**figura 27-9**).

Tirosina

La fenilalanina hidroxilasa convierte a la fenilalanina en tirosina (**figura 27-10**). Si la dieta contiene cantidades adecuadas del aminoácido esencial desde el punto de vista nutricional fenilalanina, la tirosina es no esencial en ese sentido. Empero, dado que la reacción de la fenilalanina hidroxilasa es irreversible, la tirosina de la dieta no puede remplazar a la fenilalanina. La catálisis por medio de esta oxigenasa de función mixta incorpora un átomo de O_2 en la posición *para* de la fenilalanina y reduce el otro átomo a agua. El poder reductivo, proporcionado como tetrahidrobiopterina, finalmente deriva del NADPH (figura 27-10).

Hidroxiprolina e hidroxilisina

Se encuentran sobre todo en el colágeno; puesto que no hay tRNA para uno u otro aminoácido hidroxilado, ni la hidroxiprolina ni la hidroxilisina de la dieta se incorpora durante la síntesis de proteína. La peptidil hidroxiprolina e hidroxilisina surgen a partir de prolina y lisina, pero sólo después de que estos aminoácidos se han incorporado a péptidos. La hidroxilación de residuos peptidil prolilo y peptidil lisilo, catalizada por la **prolil hidroxilasa** y la **lisil hidroxilasa** de la piel, el músculo estriado y heridas en granulación necesita, además del sustrato, O_2 molecular, ascorbato, Fe^{2+} y α-cetoglutarato (**figura 27-11**). Por cada mol de prolina o lisina hidroxilado, un mol de α-cetoglutarato se descarboxila hacia succinato. Las hidroxilasas son oxigenasas de función mixta. Un átomo de O_2 se incorpora hacia prolina o lisina, y el otro hacia succinato (figura 27-11). Una deficiencia de la vitamina C requerida para estas dos hidroxilasas da lugar a **escorbuto**, en el cual la estabilidad alterada del colágeno da por resultado gingivorragia, hinchazón de articulaciones, y alteraciones de la cicatrización de heridas (caps. 5 y 48).

Valina, leucina e isoleucina

Aunque éstos son aminoácidos esenciales desde el punto de vista nutricional, las aminotransferasas hísticas interconvierten de manera reversible los tres aminoácidos y sus α-cetoácidos correspondientes. De este modo, estos α-cetoácidos pueden remplazar sus aminoácidos en la dieta.

FIGURA 27–11 La reacción de la prolil hidroxilasa. El sustrato es un péptido rico en prolina. En el transcurso de la reacción, el oxígeno molecular se incorpora tanto hacia succinato como hacia prolina. La lisil hidroxilasa cataliza una reacción análoga.

$$H-Se-CH_2-\underset{NH_3^+}{\overset{H}{C}}-COO^-$$

$$Se + ATP + H_2O \longrightarrow AMP + P_i + H-Se-\underset{O^-}{\overset{O}{\overset{\|}{P}}}-O^-$$

FIGURA 27–12 Selenocisteína (*arriba*) y la reacción catalizada por la selenofosfato sintetasa (*abajo*).

Selenocisteína, el vigésimo primer aminoácido

Si bien es poco común que haya selenocisteína (**figura 27-12**) en proteínas, se conocen al menos 25 selenoproteínas en seres humanos. La selenocisteína está presente en el sitio activo de varias enzimas del ser humano que catalizan reacciones de redox. Los ejemplos son tiorredoxina reductasa, glutatión peroxidasa, y la desyodasa que convierte la tiroxina en triyodotironina. Cuando está presente, la selenocisteína participa en el mecanismo catalítico de estas enzimas. Un aspecto importante es que el remplazo de selenocisteína por cisteína puede alterar la actividad catalítica. Los deterioros de las selenoproteínas de ser humano se han implicado en la tumorigénesis y la aterosclerosis, y se relacionan con miocardiopatía por deficiencia de selenio (enfermedad de Keshan).

La biosíntesis de selenocisteína requiere cisteína, selenato (SeO_4^{2-}), ATP, un tRNA específico y varias enzimas. La serina proporciona el esqueleto de carbono de la selenocisteína. El selenofosfato, que se forma a partir de ATP y selenato (figura 27-12), sirve como el donador de selenio. Al contrario de la hidroxiprolina o la hidroxilisina, la selenocisteína surge de modo cotraduccional en el transcurso de su incorporación hacia péptidos. El anticodón UGA del tRNA poco común designado $tRNA^{Sec}$ por lo normal es señalado como STOP (codón de terminación o sin sentido). La capacidad del aparato sintético de proteína para identificar un codón UGA específico para selenocisteína involucra el elemento de inserción de selenocisteína, una estructura en tallo-asa en la región no traducida del mRNA. La selenocisteína-$tRNA^{Sec}$ se carga primero con serina por la ligasa que carga al $tRNA^{Ser}$. El remplazo subsiguiente del oxígeno serina por selenio comprende selenofosfato formado por la selenofosfato sintasa (figura 27-12). Reacciones catalizadas por enzimas sucesivas convierten a la cisteil-$tRNA^{Sec}$ en aminoacrilil-$tRNA^{Sec}$ y luego en selenocisteil- $tRNA^{Sec}$. En presencia de un factor de alargamiento específico que reconoce a la selenocisteil-$tRNA^{Sec}$, la selenocisteína a continuación se puede incorporar en proteínas.

RESUMEN

- Todos los vertebrados pueden formar ciertos aminoácidos a partir de intermediarios anfibólicos o de otros aminoácidos en la dieta. Los intermediarios y los aminoácidos a los cuales dan lugar son α-cetoglutarato (Glu, Gln, Pro, Hip), oxaloacetato (Asp, Asn) y 3-fosfoglicerato (Ser, Gli).
- Cisteína, tirosina e hidroxilisina se forman a partir de aminoácidos esenciales en el aspecto nutricional. La serina proporciona el esqueleto de carbono, y la homocisteína el azufre para la biosíntesis de cisteína.
- En el escorbuto, una enfermedad nutricional que se produce por una deficiencia de vitamina C, la hidroxilación alterada de la peptidil prolina y peptidil lisina da lugar a fracaso para proporcionar los sustratos para el entrecruzamiento de colágenos en maduración.
- La fenilalanina hidroxilasa convierte la fenilalanina en tirosina. La reacción catalizada por esta oxidasa de función mixta es irreversible.
- Ni la hidroxiprolina ni la hidroxilisina de la dieta se incorporan hacia proteínas porque ningún codón o tRNA dicta su inserción hacia péptidos.
- La peptidil hidroxiprolina e hidroxilisina se forman mediante hidroxilación de peptidil prolina o lisina en reacciones catalizadas por oxidasas de función mixta que necesitan vitamina C como cofactor.
- La selenocisteína, un residuo del sitio activo esencial en varias enzimas de mamífero, surge por inserción cotraduccional desde un tRNA previamente modificado.

REFERENCIAS

Beckett GJ, Arthur JR: Selenium and endocrine systems. J Endocrinol 2005;184:455.

Donovan J, Copeland PR: The efficiency of selenocysteine incorporation is regulated by translation initiation factors. J Mol Biol 2010;400:659.

Kilberg MS: Asparagine synthetase chemotherapy. Annu Rev Biochem 2006;75:629.

Lobanov AV, Hatfield DL, Gladyshev VN: Reduced reliance on the trace element selenium during evolution of mammals. Genome Biol 2008;9:R62.

Scriver CR, Sly WS, Childs B, et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Stickel F, Inderbitzin D, Candinas D: Role of nutrition in liver transplantation for end-stage chronic liver disease. Nutr Rev 2008;66:47.

Catabolismo de proteínas y de nitrógeno de aminoácidos

CAPÍTULO 28

Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir el recambio de proteína, indicar la tasa media de recambio de proteína en individuos sanos, y proporcionar ejemplos de proteínas de ser humano que son degradadas a tasas mayores que la tasa media.
- Describir los eventos en el recambio de proteína por medio de vías tanto dependientes de ATP como independientes de ATP, y los papeles en la degradación de proteína de la ubiquitina, los receptores de superficie celular, las asialoglucoproteínas circulantes, y los lisosomas.
- Indicar cómo los productos terminales finales del metabolismo del nitrógeno en mamíferos difieren de los que se encuentran en aves y peces.
- Ilustrar las funciones centrales de las transaminasas (aminotransferasas), de la glutamato deshidrogenasa y de la glutaminasa en el metabolismo de nitrógeno en seres humanos.
- Usar fórmulas estructurales para representar las reacciones que convierten NH_3, CO_2 y el nitrógeno amida del aspartato en urea.
- Indicar las ubicaciones subcelulares de las enzimas que catalizan la biosíntesis de la urea, y los papeles de la regulación alostérica y del acetilglutamato en la regulación de este proceso.
- Explicar por qué defectos metabólicos en diferentes enzimas de la biosíntesis de la urea, aunque distintos en el ámbito molecular, generan signos y síntomas clínicos similares.
- Describir tanto los métodos clásicos como el papel de la espectrometría de masa en tándem en la investigación de recién nacidos para buscar enfermedades metabólicas hereditarias.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

En este capítulo se describe de qué modo el nitrógeno de aminoácidos se convierte en urea y los raros trastornos metabólicos que acompañan a los defectos de la biosíntesis de urea. En adultos normales, la ingestión de nitrógeno es igual al nitrógeno excretado. El balance positivo de nitrógeno, un exceso de nitrógeno ingerido sobre el que se excreta, acompaña al crecimiento y al embarazo. El balance negativo de nitrógeno, en el cual el egreso excede el ingreso, puede observarse después de intervención quirúrgica, en el cáncer avanzado, y en los trastornos nutricionales kwashiorkor y marasmo. El amoniaco, que es muy tóxico, se forma en seres humanos principalmente a partir del nitrógeno α-amino de aminoácidos. En consecuencia, los tejidos convierten el amoniaco en el nitrógeno amida del aminoácido no tóxico glutamina. La desaminación subsiguiente de la glutamina en el hígado libera amoniaco, que luego se convierte en urea, que es no tóxica. Si la función del hígado está alterada, como en la cirrosis o la hepatitis, las concentraciones sanguíneas altas de amonio generan signos y síntomas clínicos. Cada enzima del ciclo de la urea proporciona ejemplos de defectos metabólicos y sus consecuencias fisiológicas, y el ciclo en conjunto sirve como un modelo molecular para el estudio de defectos metabólicos en seres humanos.

EL RECAMBIO DE PROTEÍNA OCURRE EN TODAS LAS FORMAS DE VIDA

La degradación y síntesis continuas de proteínas celulares (recambio) suceden en todas las formas de vida. Cada día, hay recambio de 1 a 2% de la proteína corporal total de seres humanos, principalmente proteína muscular. Los tejidos que están pasando por

reordenamiento estructural, por ejemplo, el tejido del útero en el transcurso de la gestación, el músculo estriado en la inanición, y el tejido de la cola del renacuajo durante la metamorfosis, tienen índices altos de degradación de proteína. Alrededor de 75% de los aminoácidos liberados por degradación de proteína se vuelve a utilizar; sin embargo, los aminoácidos libres excesivos no se almacenan. Los que no se incorporan de inmediato hacia nueva proteína se degradan con rapidez. La principal porción de los esqueletos de carbono de los aminoácidos se convierte en intermediarios anfibólicos, mientras que en seres humanos el nitrógeno amino se convierte en urea y se excreta en la orina.

PROTEASAS Y PEPTIDASAS DEGRADAN PROTEÍNAS HACIA AMINOÁCIDOS

La susceptibilidad relativa de una proteína a degradación se expresa como su vida media ($t_{½}$), el tiempo necesario para disminuir sus cifras a la mitad del valor inicial. La vida media de las proteínas del hígado varía desde menos de 30 min hasta más de 150 h. Las enzimas "normalizadoras" o "caseras" ("*house keeping*") típicas tienen valores de $t_{½}$ de más de 100 h. En contraste, las enzimas reguladoras clave pueden tener valores de $t_{½}$ de apenas 0.5 a 2 h. Las secuencias PEST, regiones ricas en prolina (P), glutamato (E), serina (S) y treonina (T), establecen a algunas proteínas como objetivos para degradación rápida. Las proteasas intracelulares hidrolizan enlaces peptídicos internos. Los péptidos resultantes a continuación se degradan hacia aminoácidos por medio de endopeptidasas que dividen enlaces peptídicos internos, y mediante aminopeptidasas y carboxipeptidasas que eliminan aminoácidos de manera secuencial desde las terminales amino y carboxilo, respectivamente.

Degradación independiente de ATP

La degradación de glucoproteínas de la sangre (cap. 47) sigue a la pérdida de una porción ácido siálico a partir de los extremos no reductores de sus cadenas de oligosacárido. Las asialoglucoproteínas a continuación son internalizadas por receptores de asialoglucoproteína de células hepáticas, y degradadas por proteasas lisosomales. Las proteínas extracelulares, asociadas a membrana, e intracelulares de vida prolongada, son degradadas en lisosomas por medio de procesos independientes de ATP.

Degradación dependiente de ATP y de ubiquitina

La degradación de proteínas reguladoras que tienen vida media breve, y las proteínas anormales o plegadas de modo erróneo, ocurre en el citosol, lo cual requiere ATP y ubiquitina. La **ubiquitina**, así llamada porque está presente en todas las células eucarióticas, es un polipéptido pequeño (8.5 kDa, 76 residuos) que establece a muchas proteínas intracelulares como blanco para degradación. La estructura primaria de la ubiquitina está muy conservada. Sólo 3 de 76 residuos difieren entre la ubiquitina de levaduras y la de seres humanos. Las moléculas de ubiquitina están fijas mediante **enlaces no α-peptídicos** que se forman entre el carboxilo terminal de la ubiquitina y los grupos ε-amino de residuos lisilo en la proteína blanco (**figura 28-1**). El residuo presente en su amino terminal influye sobre el hecho de si una proteína es ubiquitinada. El amino terminal Met o Ser retarda la ubiquitinación, mientras que Asp o Arg la acelera. La fijación de una molécula de ubiquitina única a proteínas transmembrana altera su localización subcelular y las establece como objetivos para degradación. Las proteínas solubles pasan por **poliubiquitinación**, la fijación, catalizada por ligasa, de cuatro o más moléculas de ubiquitina adicionales. La degradación subsiguiente de proteínas marcadas con ubiquitina tiene lugar en el **proteasoma**, una macromolécula con múltiples subunidades diferentes que también está omnipresente en células eucarióticas (ver cap. 46). En 2004, Aaron Ciechanover y Avram Hershko, de Israel, e Irwin Rose, de EUA, recibieron el premio Nobel en química por el descubrimiento de la degradación de proteína mediada por ubiquitina. Las enfermedades metabólicas relacionadas con defectos de la ubiquitinación incluyen los síndromes de Angelman y de von Hippel-Lindau, en el cual hay un defecto en la ubiquitina E3 ligasa. En el capítulo 4 y en el 46 se presentan aspectos adicionales de la degradación y ubiquitinación de proteína, incluso su función en el ciclo celular.

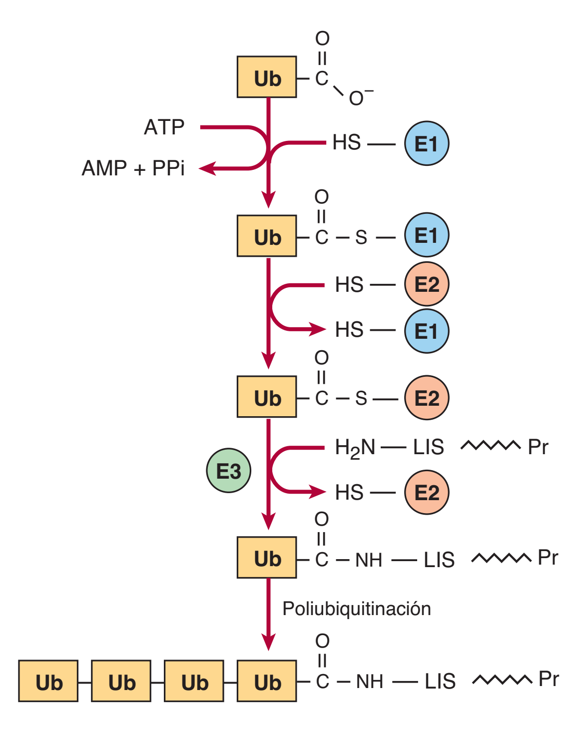


FIGURA 28–1 Reacciones comprendidas en la fijación de ubiquitina (Ub) a proteínas. Tres enzimas están involucradas. La E1 es una enzima activadora, E2 es una ligasa, y E3 es una transferasa. Si bien se describen como entidades únicas, hay varios tipos de E1, y más de 500 de E2. El COOH terminal de la ubiquitina primero forma un tioéster. La hidrólisis acoplada de PP_i por la pirofosfatasa asegura que la reacción procederá con facilidad. Una reacción de intercambio de tioéster ahora transfiere la ubiquitina activada a E2. Después E3 cataliza la transferencia de ubiquitina hacia el grupo ε-amino de un residuo lisilo de la proteína blanco. Rondas adicionales de ubiquitinación originan poliubiquitinación subsiguiente.

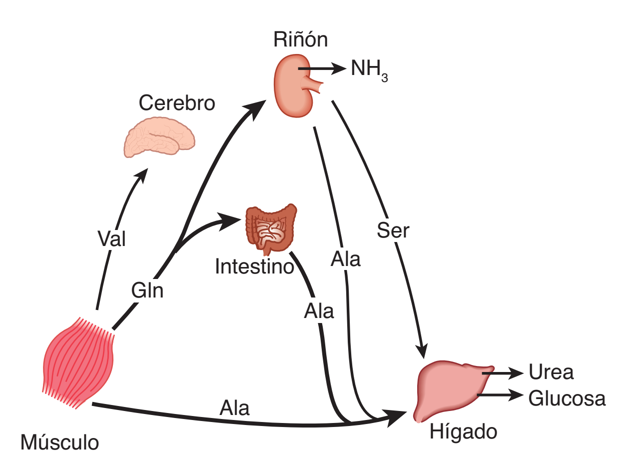


FIGURA 28–2 Intercambio de aminoácidos interórganos en seres humanos normales después de absorción. Se muestran la función clave de la alanina en el gasto de aminoácidos desde el músculo y el intestino, y la captación por el hígado.

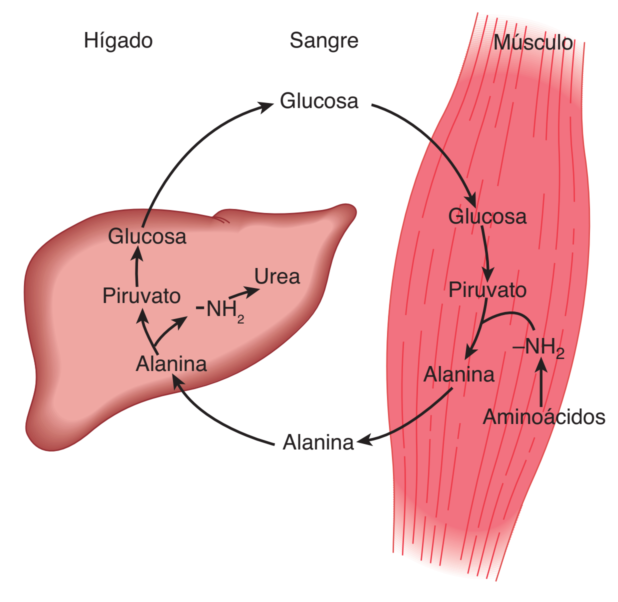


FIGURA 28–3 El ciclo de la glucosa-alanina. La alanina se sintetiza en el músculo mediante transaminación del piruvato derivado de glucosa, se libera hacia el torrente sanguíneo, y el hígado la capta. En este último órgano, el esqueleto de carbono de la alanina se reconvierte en glucosa y se libera hacia el torrente sanguíneo, donde está disponible para captación por el músculo y resíntesis de alanina.

EL INTERCAMBIO INTERÓRGANO MANTIENE LAS CONCENTRACIONES CIRCULANTES DE AMINOÁCIDOS

El mantenimiento de cifras de estado estable de aminoácidos que circulan en el plasma entre las comidas depende del balance neto entre la liberación desde reservas de proteína endógenas y la utilización por diversos tejidos. El músculo genera más de la mitad del fondo común corporal total de aminoácidos libres, y el hígado es el sitio de las enzimas del ciclo de la urea necesarias para la eliminación del nitrógeno excesivo. Así, el músculo y el hígado desempeñan funciones importantes en el mantenimiento de las concentraciones de aminoácidos en la circulación.

En la **figura 28-2** se resume el estado posterior a la absorción. Los aminoácidos libres, en especial alanina y glutamina, se liberan desde el músculo hacia la circulación. La alanina, que parece ser el vehículo de transporte de nitrógeno en el plasma, se extrae principalmente en el hígado. La glutamina se extrae en el intestino y los riñones, y ambos convierten una porción importante en alanina. La glutamina también sirve como una fuente de amoniaco para excreción por los riñones. Estos últimos proporcionan una fuente importante de serina para captación por tejidos periféricos, incluso hígado y músculo. Los aminoácidos de cadena ramificada, en particular la valina, son liberados por el músculo y captados de forma predominante por el cerebro.

La alanina es un **aminoácido gluconeogénico** clave (**figura 28-3**). El índice de gluconeogénesis hepática a partir de alanina es mucho más alto que el proveniente de todos los otros aminoácidos. La capacidad del hígado para gluconeogénesis desde alanina no se satura sino hasta que las cifras de alanina alcanzan 20 a 30 veces su concentración fisiológica normal. Luego de una comida con alto contenido de proteína, los tejidos esplácnicos liberan aminoácidos (**figura 28-4**), mientras que los músculos periféricos extraen aminoácidos, en ambos casos de manera predominante aminoácidos de cadena ramificada. De ese modo, éstos desempeñan una función especial en el metabolismo de nitrógeno, tanto en el estado de ayuno, cuando proporcionan una fuente de energía al cerebro, como después de la alimentación, cuando son extraídos predominantemente por los músculos, una vez que han sido preservados por el hígado.

LOS ANIMALES CONVIERTEN EL NITRÓGENO α-AMINO EN PRODUCTOS TERMINALES VARIADOS

Dependiendo de su nicho ecológico y de sus características fisiológicas, diferentes animales excretan el nitrógeno excesivo como amoniaco, como ácido úrico, o como urea. El ambiente acuoso de los peces teleósteos, que son **amonotélicos** (que excretan amoniaco), les permite excretar agua continuamente para facilitar la excreción de amoniaco, que es muy tóxico. Si bien este método es apropiado para un animal acuático, las aves deben

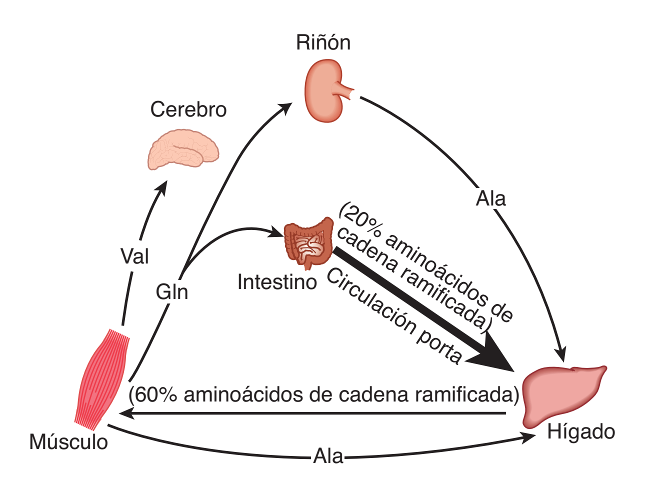


FIGURA 28–4 Resumen del intercambio de aminoácidos entre órganos justo después de la alimentación.

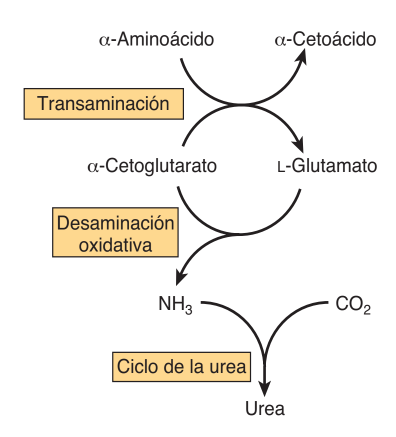


FIGURA 28–5 Flujo general de nitrógeno en el catabolismo de aminoácidos.

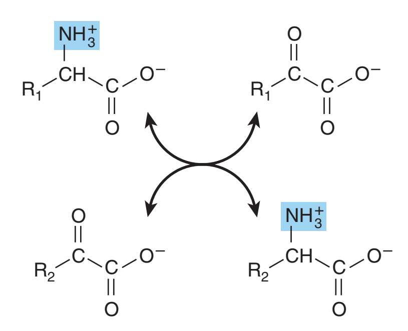


FIGURA 28–6 Transaminación. La reacción es libremente reversible, con una constante de equilibrio cercana a la unidad.

conservar agua y mantener el peso bajo. Las aves que son **uricotélicas**, abordan ambos problemas al excretar ácido úrico rico en nitrógeno (figura 33-11) como un guano semisólido. Muchos animales terrestres, incluso los seres humanos, son **ureotélicos**, y excretan urea no tóxica, altamente hidrosoluble. Dado que la urea no es tóxica para seres humanos, la concentración alta en sangre en pacientes con enfermedad renal es una consecuencia de función renal alterada, no una causa.

BIOSÍNTESIS DE UREA

Ocurre en cuatro etapas: 1) transaminación, 2) desaminación oxidativa de glutamato, 3) transporte de amoniaco y 4) reacciones del ciclo de la urea (**figura 28-5**). El uso de sondas de DNA complementarias ha mostrado que la expresión en el hígado de los RNA que codifican para todas las enzimas del ciclo de la urea aumenta varias veces durante la inanición.

La transaminación transfiere nitrógeno α-amino a α-cetoglutarato, lo que forma glutamato

Las reacciones de transaminación interconvierten pares de α-aminoácidos y α-cetoácidos (**figura 28-6**). Las reacciones de transaminación, que son libremente reversibles, también funcionan en la biosíntesis de aminoácidos (figura 27-3). Todos los aminoácidos comunes, excepto la lisina, treonina, prolina e hidroxiprolina participan en la transaminación. La transaminación no está restringida a grupos α-amino. El grupo δ-amino de la ornitina (no así el grupo ε-amino de la lisina) pasa fácilmente por transaminación.

La alanina-piruvato aminotransferasa (alanina aminotransferasa) y la glutamato-α-cetoglutarato aminotransferasa (glutamato aminotransferasa) catalizan la transferencia de grupos amino hacia piruvato (lo que forma alanina) o hacia α-cetoglutarato (lo que forma glutamato) (**figura 28-7**). Cada aminotransferasa es específica para un par de sustratos, pero inespecífica para el otro par. Puesto que la alanina también es un sustrato para la glutamato aminotransferasa, todo el nitrógeno amino proveniente de aminoácidos que pasan por transaminación puede concentrarse en el glutamato. Esto es importante porque el L-glutamato es el único aminoácido que pasa por desaminación oxidativa a un índice apreciable en tejidos de mamífero. De esta manera, la formación de amoniaco a partir de grupos α-amino ocurre principalmente por medio del nitrógeno α-amino del L-glutamato.

La transaminación ocurre por medio de un mecanismo de "ping-pong" que se caracteriza por adición de un sustrato y liberación de un producto alternadas (figura 28-7). Después de la eliminación de su nitrógeno α-amino mediante transaminación, el "esqueleto" de carbono restante de un aminoácido es degradado por medio de vías que se comentan en el capítulo 29. Como se mencionó, ciertas enfermedades se asocian con cifras séricas altas de aminotransferasas (cuadro 7-2).

El fosfato de piridoxal (PLP), un derivado de la vitamina B_6 (figura 44-12) está presente en el sitio catalítico de todas las aminotransferasas, y desempeña un papel clave en la catálisis. Durante la transaminación el PLP sirve como un "transportador" de grupos amino. Se forma una base de Schiff unida a enzima (**figura 28-8**) entre el grupo oxo de PLP unido a enzima y el grupo α-amino de un α-aminoácido. La base de Schiff puede reordenarse de diversas maneras. En la transaminación, el reordenamiento forma un cetoácido y un fosfato de piridoxamina unido a enzima. Como se mencionó, ciertas enfermedades se asocian con concentración sérica alta de transaminasas (cuadro 7-2).

LA L-GLUTAMATO DESHIDROGENASA OCUPA UNA POSICIÓN FUNDAMENTAL EN EL METABOLISMO DE NITRÓGENO

La transferencia de nitrógeno amino hacia α-cetoglutarato forma L-glutamato. La **L-glutamato deshidrogenasa hepática (GDH)**,

$$E{-}CHO \xrightarrow{Ala} E{<}^{CHO}_{Ala} \longrightarrow E{<}^{CH_2NH_2}_{Pir} \xrightarrow{Pir} E{-}CH_2NH_2 \xrightarrow{KG} E{<}^{CH_2NH_2}_{KG} \longrightarrow E{<}^{CHO}_{Glu} \xrightarrow{Glu} E{-}CHO$$

FIGURA 28–7 Mecanismo de "ping-pong" para la transaminación. E—CHO y E—CH_2NH_2 representan fosfato de piridoxal y fosfato de piridoxamina unidos a enzima, respectivamente. (Ala, alanina; Glu, glutamato; KG, α-cetoglutarato; Pir, piruvato.)

FIGURA 28–8 **Estructura de una base de Schiff formada entre fosfato de piridoxal y un aminoácido.**

que puede usar NAD^+ o $NADP^+$, libera este nitrógeno como amoniaco (**figura 28-9**). La conversión de nitrógeno α-amino en amoniaco por la acción concertada de la glutamato aminotransferasa y la GDH suele denominarse "transdesaminación". La actividad de GDH en el hígado es inhibida de modo alostérico por ATP, GTP y NADH, y activada por ADP. La reacción de GDH es libremente reversible, y funciona también en la biosíntesis de aminoácidos (figura 27-1).

Las aminoácido oxidasas también eliminan nitrógeno como amoniaco

Aun cuando su importancia fisiológica es incierta, las L-aminoácido oxidasas del hígado y los riñones convierten un aminoácido en un α-iminoácido que se descompone hacia un α-cetoácido con liberación de ion amonio (**figura 28-10**). El oxígeno molecular reoxida a la flavina reducida, lo que forma peróxido de hidrógeno (H_2O_2), al cual luego la **catalasa** divide hacia O_2 y H_2O.

La intoxicación por amoniaco pone en peligro la vida

El amoniaco producido por las bacterias entéricas y que se absorbe hacia la sangre venosa porta, y el amoniaco producido por los tejidos, se eliminan con rapidez de la circulación por medio del hígado, y se convierten en urea. Así, en circunstancias normales únicamente hay cantidades traza (10 a 20 μg/dl) en la sangre periférica. Esto es esencial, dado que el amoniaco es tóxico para el sistema nervioso central. Cuando la sangre porta no pasa por el hígado, las cifras sanguíneas de amoniaco pueden alcanzar concentraciones tóxicas. Esto sucede en presencia de función hepática gravemente alterada, o cuando se forman enlaces colaterales entre las venas porta y sistémicas en la cirrosis. Los síntomas de **intoxicación por amoniaco** son temblor, lenguaje cercenado, visión borrosa, coma y finalmente la muerte. El amoniaco puede ser tóxico para el cerebro debido en parte a que reacciona con α-cetoglutarato para formar glutamato. El decremento resultante de las cifras de α-cetoglutarato después altera la función del ciclo del ácido tricarboxílico (TCA) en neuronas.

FIGURA 28–9 **La reacción de la L-glutamato deshidrogenasa.** $NAD(P)^+$ significa que el NAD^+ o el $NADP^+$ puede servir como el oxidorreductor. La reacción es reversible, pero favorece la formación de glutamato.

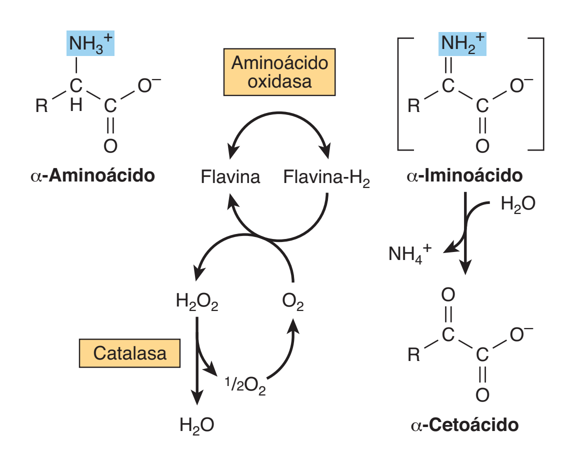


FIGURA 28–10 **Desaminación oxidativa catalizada por la L-aminoácido oxidasa (L-α-aminoácido:O_2 oxidorreductasa).** El α-iminoácido, que se muestra entre corchetes, no es un intermediario estable.

La glutamina sintetasa fija el amoniaco como glutamina

La **glutamina sintetasa** mitocondrial cataliza la formación de glutamina (**figura 28-11**). Puesto que la síntesis de enlace amida está acoplada a la hidrólisis de ATP hacia ADP y P_i, la reacción favorece fuertemente la síntesis de glutamina. Durante la catálisis, el glutamato ataca el grupo γ-fosforilo del ATP, lo que forma γ-glutamil fosfato y ADP. Después de la desprotonación de NH_4^+, el NH_3 ataca el γ-glutamil fosfato, y se liberan glutamina y P_i. Además de proporcionar glutamina para que sirva como un transportador de nitrógeno, carbono y energía entre órganos (figura 28-2), la glutamina sintetasa desempeña una función importante en la destoxificación de amoniaco y la homeostasis acidobásica. Una rara deficiencia de glutamina sintetasa en recién nacidos da lugar a daño cerebral grave, insuficiencia multiorgánica y muerte.

Glutaminasa y asparaginasa desamidato glutamina y asparagina

Hay dos isoformas de glutaminasa mitocondrial en seres humanos, llamadas glutaminasas tipo hepático y tipo renal. Las

FIGURA 28–11 **La reacción de la glutamina sintetasa favorece de manera importante la síntesis de glutamina.**

FIGURA 28–12 La reacción de glutaminasa procede en esencia de modo irreversible en la dirección de la formación de glutamato y NH_4^+. Note que se elimina el nitrógeno amida, no el nitrógeno α-amino.

glutaminasas, que son productos de diferentes genes, difieren respecto a su estructura, cinética y regulación. La concentración de glutaminasa hepática aumenta en respuesta a ingestión alta de proteína, mientras que la glutaminasa tipo renal aumenta en los riñones en la acidosis metabólica. La liberación hidrolítica del nitrógeno amida de la glutamina como amoniaco, catalizada por la **glutaminasa** (**figura 28-12**), favorece con fuerza la formación de glutamato. La L-asparaginasa cataliza una reacción análoga. De esta manera, la acción concertada de la glutamina sintetasa y de la glutaminasa cataliza la interconversión de ion amonio libre y glutamina.

La formación y secreción de amoniaco mantienen el equilibrio acidobásico

La excreción hacia la orina del amoniaco producido por las células de los túbulos renales facilita la conservación de catión y la regulación del equilibrio acidobásico. La **acidosis metabólica** incrementa la producción de amoniaco a partir de aminoácidos renales intracelulares, en especial glutamina, en tanto que la **alcalosis metabólica** la aminora.

LA UREA ES EL PRINCIPAL PRODUCTO TERMINAL DEL CATABOLISMO DE NITRÓGENO EN SERES HUMANOS

La síntesis de 1 mol de urea necesita 3 mol de ATP, 1 mol, cada uno, de ion amonio y de aspartato, y emplea cinco enzimas (**figura 28-13**). De los seis aminoácidos que participan, el *N*-acetilglutamato funciona sólo como un activador de enzima. Los otros funcionan como acarreadores de átomos que, por último, se convierten en urea. El principal papel metabólico de la **ornitina**, **citrulina** y **argininosuccinato** en mamíferos es la síntesis de urea, que es un proceso cíclico. Mientras que se consumen ion amonio, CO_2, ATP y aspartato, la ornitina consumida en la reacción 2 es regenerada en la reacción 5. Así, no hay pérdida o ganancia neta de ornitina, citrulina, argininosuccinato o arginina. Algunas reacciones de la síntesis de urea ocurren en la matriz de la mitocondria, y otras reacciones en el citosol (figura 28-13).

La carbamoil fosfato sintetasa I inicia la biosíntesis de urea

La **carbamoil fosfato sintetasa I** mitocondrial cataliza la condensación de CO_2, amoniaco y ATP para formar **carbamoil fosfato**. Una forma citosólica de esta enzima, la carbamoil fosfato sintetasa II, usa glutamina en lugar de amoniaco como el donador de nitrógeno, y funciona en la biosíntesis de pirimidina (figura 33-9). Así, la acción concertada de la glutamato deshidrogenasa y de la carbamoil fosfato sintetasa I, transporta nitrógeno amino hacia el carbamoil fosfato, un compuesto con un alto potencial de transferencia de grupo.

La carbamoil fosfato sintetasa I, la enzima limitante del ciclo de la urea, sólo es activa en presencia de ***N*-acetilglutamato**, un activador alostérico que aumenta la afinidad de la sintetasa por ATP. La síntesis de 1 mol de carbamoil fosfato requiere 2 mol de ATP. Un ATP sirve como donador del fosforilo para la formación del enlace anhídrido ácido mixto del carbamoil fosfato. El segundo ATP proporciona la fuerza impulsora para la síntesis del enlace amida del carbamoil fosfato. Los otros productos son 2 mol de ADP y 1 mol de P_i (reacción 1, figura 28-13). La reacción procede por pasos. La reacción de bicarbonato con ATP forma carbonil fosfato y ADP. A continuación el amoniaco desplaza al ADP, lo que forma carbamato y ortofosfato. La fosforilación de carbamato por el segundo ATP forma entonces carbamoil fosfato.

El carbamoil fosfato más ornitina forma citrulina

La **L-ornitina transcarbamoilasa** cataliza la transferencia del grupo carbamoilo del carbamoil fosfato hacia ornitina, lo que forma citrulina y ortofosfato (reacción 2, figura 28-13). Si bien la reacción sucede en la matriz mitocondrial, tanto la formación de ornitina como el metabolismo subsiguiente de citrulina tienen lugar en el citosol. Por ende, la entrada de ornitina hacia las mitocondrias, y el éxodo de citrulina desde estas últimas, comprenden permeasas de membrana interna mitocondrial (figura 28-13).

La citrulina más aspartato forman argininosuccinato

La **argininosuccinato sintetasa** enlaza aspartato y citrulina mediante el grupo amino del aspartato (reacción 3, figura 28-13), y proporciona el segundo nitrógeno de la urea. La reacción necesita ATP e incluye la formación intermedia de citrulil-AMP. El desplazamiento subsiguiente de AMP por aspartato a continuación forma argininosuccinato.

La división de argininosuccinato forma arginina y fumarato

La división del argininosuccinato es catalizada por la **argininosuccinato liasa**. La reacción procede con retención de los tres

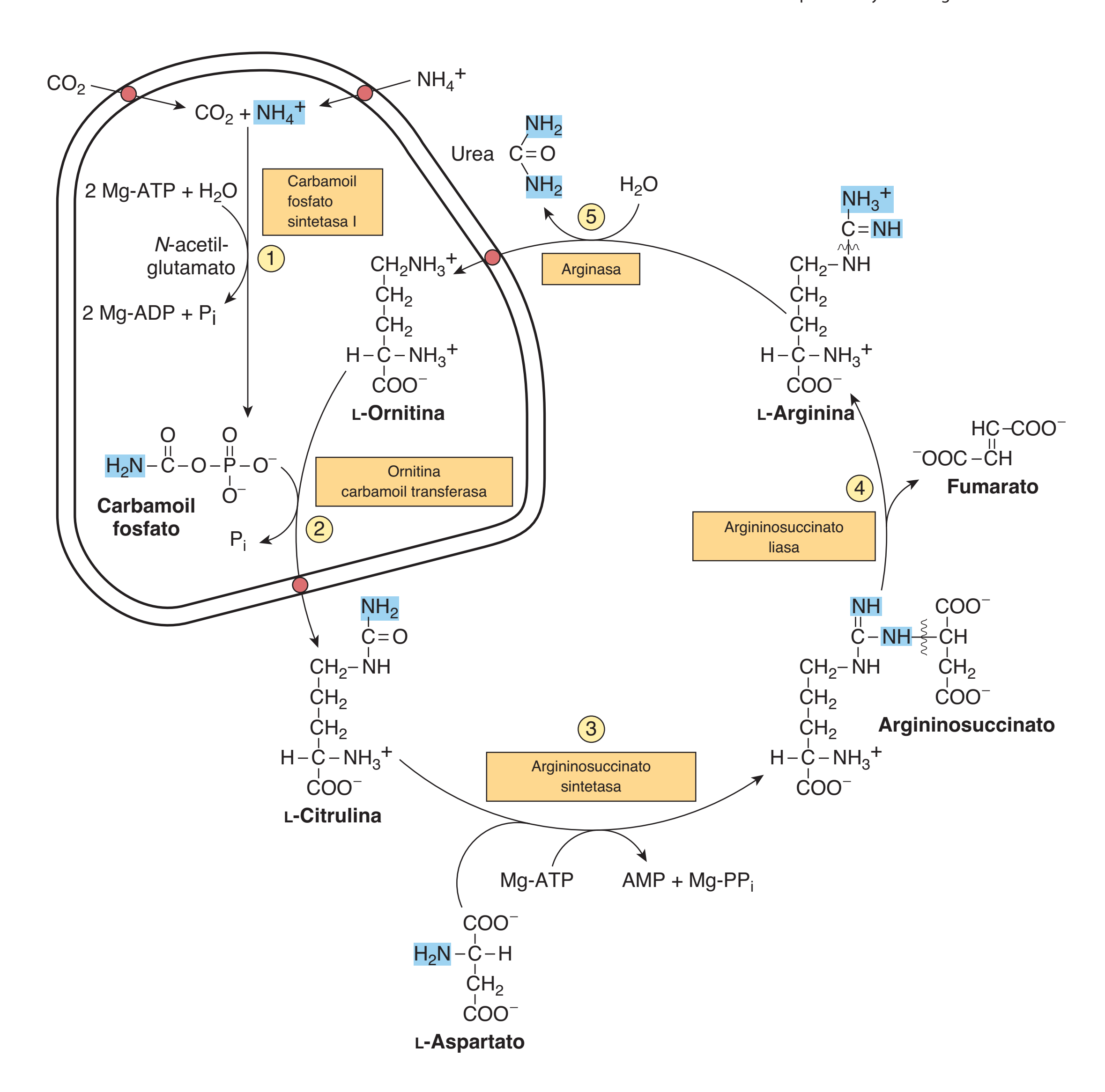


FIGURA 28-13 **Reacciones e intermediarios de la biosíntesis de la urea.** Los grupos que contienen nitrógeno que contribuyen a la formación de urea están sombreados. Las reacciones ① y ②, ocurren en la matriz de las mitocondrias hepáticas, y las reacciones ③, ④ y ⑤, en el citosol hepático. El CO_2 (como bicarbonato), el ion amonio, la ornitina y la citrulina entran a la matriz mitocondrial por medio de acarreadores específicos (véanse los puntos de color rojo) presentes en la membrana interna de las mitocondrias del hígado.

nitrógenos en la arginina, y liberación del esqueleto aspartato como fumarato (reacción 4, figura 28-13). La adición subsiguiente de agua a fumarato forma L-malato, cuya oxidación dependiente de NAD^+ subsiguiente lo convierte en oxaloacetato. Estas dos reacciones son análogas a las reacciones del ciclo del ácido cítrico (figura 17-3), pero son catalizadas por la **fumarasa y la malato deshidrogenasa *citosólicas***. La transaminación de oxaloacetato por la glutamato aminotransferasa a continuación vuelve a formar aspartato. De esta manera, el esqueleto de carbono del aspartato-fumarato actúa como un acarreador del nitrógeno de glutamato hacia un precursor de urea.

La división de arginina libera urea y vuelve a formar ornitina

La división hidrolítica del grupo guanidino de la arginina, catalizada por la **arginasa** hepática, libera urea (reacción 5, figura 28-13). El otro producto, la ornitina, vuelve a entrar a las mitocondrias hepáticas, y participa en rondas adicionales de síntesis de urea. La ornitina y la lisina son potentes inhibidores de la arginasa, y compiten con la arginina. Esta última también funciona como un precursor del potente relajante muscular óxido nítrico (NO) en una reacción dependiente de Ca^{2+} catalizada por la NO sintetasa (figura 49-15).

La carbamoil fosfato sintetasa I es la enzima marcapasos del ciclo de la urea

La actividad de la carbamoil fosfato sintetasa I está determinada por el *N*-acetilglutamato, cuya concentración de estado estable está dictada por el equilibrio entre su índice de síntesis a partir de acetil-CoA y glutamato, y su índice de hidrólisis hacia acetato y glutamato. Estas reacciones son catalizadas por la

N-acetilglutamato sintetasa (NAGS) y la *N*-acetilglutamato hidrolasa, respectivamente.

$$\text{Acetil-CoA} + \text{L-glutamato} \rightarrow N\text{-acetil-L-glutamato} + \text{CoASH}$$
$$N\text{-acetil-L-glutamato} + H_2O \rightarrow \text{L-glutamato} + \text{acetato}$$

Los cambios importantes en la dieta pueden incrementar 10 a 20 veces las cifras de enzimas individuales del ciclo de la urea. Por ejemplo, la inanición aumenta las concentraciones de enzimas, probablemente para afrontar el incremento de la producción de amoniaco que acompaña a la degradación aumentada de proteína inducida por inanición.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS TRASTORNOS METABÓLICOS

Los trastornos metabólicos comparativamente raros, pero bien caracterizados y devastadores desde el punto de vista médico, relacionados con las enzimas de la biosíntesis de la urea, ilustran los siguientes principios generales de las enfermedades metabólicas hereditarias:

1. Signos y síntomas clínicos similares o idénticos pueden caracterizar diversas mutaciones genéticas en un gen que codifica para una enzima dada, o en enzimas que catalizan reacciones sucesivas en una vía metabólica.
2. La terapia racional debe basarse en un entendimiento de las reacciones catalizadas por enzimas bioquímicas importantes en sujetos tanto normales como alterados.
3. La identificación de intermediarios y de productos auxiliares que se acumulan antes de un bloqueo metabólico proporciona la base para las pruebas para detectar trastornos metabólicos, y pueden indicar la reacción que está alterada.
4. El diagnóstico preciso requiere evaluación cuantitativa de la actividad de la enzima que se sospecha que es defectuosa.
5. La secuencia de DNA del gen que codifica para una enzima mutante dada se compara con la del gen tipo natural para identificar la o las mutaciones específicas que originan la enfermedad.
6. Con el aumento exponencial de la secuenciación de DNA de genes del ser humano se han identificado docenas de mutaciones de un gen afectado que son benignas o se asocian con síntomas de gravedad variable de un trastorno metabólico dado.

HAY TRASTORNOS METABÓLICOS RELACIONADOS CON CADA REACCIÓN DEL CICLO DE LA UREA

Se han descrito defectos en cada enzima del ciclo de la urea. Muchas de las mutaciones causales han sido "mapeadas" y se han identificado defectos específicos en las enzimas codificadas. Cinco enfermedades bien documentadas representan defectos de la biosíntesis de enzimas del ciclo de la urea. El análisis genético molecular ha identificado con exactitud los loci de mutaciones relacionadas con cada deficiencia, cada uno de los cuales muestra considerable variabilidad genética y fenotípica (**cuadro 28-1**).

CUADRO 28–1 Enzimas de trastornos metabólicos hereditarios del ciclo de la urea

Enzima	Número de catálogo de la enzima	Referencia OMIM[1]	Figura y reacción (fig. 28-13)
Carbamoil-fosfato sintetasa	6.3.4.16	237300	28–11 ①
Ornitina carbamoil transferasa	2.1.3.3	311250	28–11 ②
Argininosuccinato sintetasa	6.3.4.5	215700	28–11 ③
Argininosuccinato liasa	4.3.2.1	608310	28–11 ④
Arginasa	3.5.3.1	608313	28–11 ⑤

[1]Online Mendelian inheritance in man database: ncbi.nlm.nih.gov/omim/

Los trastornos del ciclo de la urea se caracterizan por hiperamonemia, encefalopatía y alcalosis respiratoria. Cuatro de las cinco enfermedades metabólicas, deficiencias de carbamoil fosfato sintetasa, ornitina carbamoil transferasa, argininosuccinato sintetasa y argininosuccinato liasa, suscitan la acumulación de precursores de urea, en especial amoniaco y glutamina. La intoxicación por amoniaco es más grave cuando el bloqueo metabólico ocurre en las reacciones 1 o 2 (figura 28-13), porque si puede sintetizarse citrulina, algo de amoniaco ya se ha eliminado al enlazarse de modo covalente a un metabolito orgánico.

Los síntomas clínicos comunes a todos los trastornos del ciclo de la urea comprenden vómitos, evitación de alimentos con alto contenido de proteína, ataxia intermitente, irritabilidad, letargo y retraso mental grave. La presentación clínica más notoria sucede en lactantes a término que en un inicio parecen normales pero luego muestran letargo progresivo, hipotermia y apnea debido a las cifras plasmáticas altas de amoniaco. Los datos clínicos y el tratamiento de los cinco trastornos son similares. Una dieta hipoproteínica ingerida como comidas frecuentes pequeñas con el fin de evitar incrementos repentinos de las concentraciones sanguíneas de amoniaco puede ir acompañada de mejoría y minimización del daño cerebral significativas. El objetivo de la dietoterapia es proporcionar suficiente proteína, arginina y energía para promover el crecimiento y desarrollo, mientras que al mismo tiempo se minimizan las perturbaciones metabólicas relacionadas con estas enfermedades.

Carbamoil fosfato sintetasa I

El *N*-acetilglutamato es esencial para la actividad de la carbamoil fosfato sintetasa I (reacción 1, figura 28-13). Los defectos de esta enzima producen la enfermedad metabólica relativamente rara (frecuencia estimada, 1:62 000) denominada "hiperamonemia tipo 1".

N-acetilglutamato sintetasa (NAGS)

Cataliza la formación, a partir de acetil-CoA y glutamato, del *N*-acetilglutamato esencial para la actividad de la carbamoil fosfato sintetasa I.

L-Glutamato + acetil-CoA → *N*-acetil- L-glutamato + CoASH

Aunque las características clínicas y bioquímicas de la deficiencia de NAGS son indistinguibles de las que surgen por un defecto de la carbamoil fosfato sintetasa I, una deficiencia de NAGS puede mostrar respuesta al *N*-acetilglutamato administrado.

Ornitina permeasa

La hiperornitinemia, la hiperamonemia y el síndrome de homocitrulinuria (**síndrome HHH**) se producen por mutación del gen ORNT1 que codifica para la permeasa de ornitina de la membrana mitocondrial. El fracaso para importar ornitina citosólica hacia la matriz mitocondrial hace inoperable al ciclo de la urea, con hiperamonemia consiguiente, e hiperornitinemia debida a la acumulación acompañante de ornitina citosólica. En ausencia de su aceptor normal ornitina, el carbamoil fosfato mitocondrial carbamoila la lisina hacia homocitrulina, lo que ocasiona homocitrulinuria.

Ornitina transcarbamoilasa

La deficiencia enlazada al cromosoma X llamada "hiperamonemia tipo 2" refleja un defecto de la ornitina transcarbamoilasa (reacción 2, figura 28-13). Las madres también muestran hiperamonemia, y aversión a los alimentos hiperproteínicos. Las cifras de glutamina están altas en la sangre, el líquido cefalorraquídeo y la orina, probablemente como resultado de aumento de la síntesis de glutamina en respuesta a concentraciones altas de amoniaco hístico.

Argininosuccinato sintetasa

Además de los enfermos que carecen de actividad detectable de esta enzima (reacción 3, figura 28-13), se ha informado un incremento de 25 veces de la K_m para citrulina. En la citrulinemia resultante, las cifras de citrulina en el plasma y el líquido cefalorraquídeo están altas, y se excretan 1 a 2 g de citrulina a diario.

Argininosuccinato liasa

La argininosuccinicaciduria, acompañada de concentraciones altas de argininosuccinato en la sangre, el líquido cefalorraquídeo y la orina, se relaciona con pelo friable y deshilachado en el extremo (tricorrexis nodosa). Se conocen tipos de inicio tanto temprano como tardío. El defecto metabólico yace en la argininosuccinato liasa (reacción 4, figura 28-13). El diagnóstico basado en la medición de la actividad de argininosuccinato liasa en los eritrocitos puede efectuarse en sangre de cordón umbilical o en células de líquido amniótico.

Arginasa

La hiperargininemia es un defecto autosómico recesivo en el gen que codifica para la arginasa (reacción 5, figura 28-13). Al contrario de otros trastornos del ciclo de la urea, los primeros síntomas de hiperargininemia típicamente no aparecen sino hasta los 2 a 4 años de edad. Las cifras de arginina en la sangre y el líquido cefalorraquídeo están altas. El modelo de aminoácidos urinario, que semeja el de la lisina-cistinuria (cap. 29), quizá refleje competencia por la arginina con lisina y cisteína para resorción en el túbulo renal.

El análisis de sangre del recién nacido mediante espectrometría de masa en tándem puede detectar enfermedades metabólicas

Las enfermedades metabólicas dependientes de falta o deterioro funcional de enzimas metabólicas pueden ser devastadoras. Empero, la intervención temprana respecto a la dieta casi siempre puede disminuir los efectos ominosos que de otra manera son inevitables. De este modo, la detección temprana de esas enfermedades metabólicas tiene importancia primaria. Desde que en EUA iniciaron los programas de detección durante el decenio de 1960-1969, en todos los estados de ese país ahora se llevan a cabo pruebas de detección de enfermedades metabólicas en recién nacidos, aun cuando el alcance de las pruebas de detección empleadas varía entre uno y otro. La poderosa y sensible técnica de **espectrometría de masa en tándem** (cap. 4) puede detectar en algunos minutos más de 40 analitos de importancia en la detección de trastornos metabólicos. En casi todo el territorio estadounidense se emplea la MS (espectometría de masa) en tándem para investigar a recién nacidos con el objeto de detectar trastornos metabólicos, como acidemias orgánicas, aminoacidemias, trastornos de la oxidación de ácidos grasos, y defectos de las enzimas del ciclo de la urea. Con todo, persisten diferencias importantes de la cobertura de analitos entre los estados. En un artículo en *Clinical Chemistry* 2006 39:315 se revisa la teoría de la MS en tándem, su aplicación a la detección de trastornos metabólicos, y situaciones que pueden dar resultados positivos falsos, e incluye un cuadro grande de analitos detectables, y las enfermedades metabólicas importantes.

¿La terapia génica resulta promisoria para corregir defectos de la biosíntesis de la urea?

La terapia génica de defectos de las enzimas del ciclo de la urea es un área de investigación activa. A pesar de haberse obtenido resultados estimulantes en modelos en animales, por ejemplo, el uso de un vector adenoviral para tratar citrulinemia, en la actualidad la terapia génica no proporciona una solución eficaz para seres humanos.

RESUMEN

- Los seres humanos degradan 1 a 2% de su proteína corporal a diario, a índices que varían entre las proteínas y con el estado fisiológico. Las enzimas reguladoras clave a menudo tienen vida media breve.
- Las proteínas se degradan por medio de vías tanto dependientes, como independientes, de ATP. La ubiquitina establece como objetivo muchas proteínas intracelulares para degradación. Los receptores de superficie celular hepáticos se unen a asialoglucoproteínas circulantes destinadas para degradación lisosómica, y las internalizan.

- Los peces excretan de manera directa el muy tóxico NH_3. Las aves convierten el NH_3 en ácido úrico. Los vertebrados superiores convierten el NH_3 en urea.
- La transaminación canaliza el nitrógeno de aminoácidos hacia glutamato. La L-glutamato deshidrogenasa (GDH) ocupa una posición fundamental en el metabolismo del nitrógeno.
- La glutamina sintetasa convierte el NH_3 en glutamina no tóxica. La glutamina libera NH_3 para uso en la síntesis de urea.
- El NH_3, el CO_2 y el nitrógeno amida del aspartato proporcionan los átomos de la urea.
- La síntesis de urea en el hígado tiene lugar en parte en la matriz mitocondrial, y en parte en el citosol.
- Los cambios de las concentraciones de enzima y la regulación alostérica de la carbamoil fosfato sintetasa I por *N*-acetilglutamato regulan la biosíntesis de la urea.
- Las enfermedades metabólicas se relacionan con defectos en cada enzima del ciclo de la urea, de la permeasa de ornitina relacionado con membrana, y de la NAGS.
- La MS en tándem es la mejor técnica para efectuar pruebas de detección de enfermedades metabólicas hereditarias en recién nacidos.

REFERENCIAS

Brooks P, Fuertes G, Murray RZ, et al: Subcellular localization of proteasomes and their regulatory complexes in mammalian cells. Biochem J 2000;346:155.

Caldovic L, Morizono H, Tuchman M: Mutations and polymorphisms in the human *N*-acetylglutamate synthase (NAGS) gene. Hum Mutat 2007;28:754.

Crombez EA, Cederbaum SD: Hyperargininemia due to liver arginase deficiency. Mol Genet Metab 2005;84:243.

Elpeleg O, Shaag A, Ben-Shalom E, et al: *N*-acetylglutamate synthase deficiency and the treatment of hyperammonemic encephalopathy. Ann Neurol 2002;52:845.

Garg U, Dasouki M: Expanded newborn screening of inherited metabolic disorders by tandem mass spectrometry. Clinical and laboratory aspects. Clin Biochem 2006;39:315.

Gyato K, Wray J, Huang ZJ, et al: Metabolic and neuropsychological phenotype in women heterozygous for ornithine transcarbamylase deficiency. Ann Neurol 2004;55:80.

Häberle J, Denecke J, Schmidt E, et al: Diagnosis of *N*-acetylglutamate synthase deficiency by use of cultured fibroblasts and avoidance of nonsense-mediated mRNA decay. J Inherit Metab Dis 2003;26:601.

Häberle J, Görg B, Rutsch F, et al: Congenital glutamine deficiency with glutamine synthetase mutations. N Engl J Med 2005; 353:1926.

Häberle J, Pauli S, Schmidt E, et al: Mild citrullinemia in caucasians is an allelic variant of argininosuccinate synthetase deficiency (citrullinemia type 1). Mol Genet Metab 2003;80:302.

Iyer R, Jenkinson CP, Vockley JG, et al: The human arginases and arginase deficiency. J Inherit Metab Dis 1998;21:86.

Pickart CM: Mechanisms underlying ubiquitination. Annu Rev Biochem 2001;70:503.

Scriver CR: Garrod's foresight; our hindsight. J Inherit Metab Dis 2001;24:93.

Scriver CR, Sly WS, Childs B, et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Yi JJ, Ehlers MD: Emerging roles for ubiquitin and protein degradation in neuronal function. Pharmacol Rev 2007;59:206.

Catabolismo de los esqueletos de carbono de aminoácidos

CAPÍTULO

29

Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Nombrar los principales catabolitos de los esqueletos de carbono de los aminoácidos comunes, y los principales destinos metabólicos de estos catabolitos.
- Escribir una ecuación para una reacción de aminotransferasa (transaminasa), e ilustrar la función que desempeña la coenzima.
- Esbozar las vías metabólicas para cada uno de los aminoácidos comunes, e identificar reacciones asociadas con trastornos metabólicos importantes en clínica.
- Proporcionar ejemplos de aminoacidurias que surgen por defectos de la resorción tubular glomerular, y las consecuencias de la absorción intestinal alterada de triptófano.
- Explicar por qué defectos metabólicos en diferentes enzimas del catabolismo de un aminoácido específico pueden relacionarse con signos y síntomas clínicos similares.
- Describir las implicaciones de un defecto metabólico en la glutamato-γ-semialdehído deshidrogenasa para el catabolismo de la prolina y de la 4-hidroxiprolina.
- Explicar cómo el nitrógeno α-amino de la prolina y de la lisina es eliminado mediante procesos que no son transaminación.
- Hacer analogías entre las reacciones que participan en el catabolismo de ácidos grasos y de aminoácidos de cadena ramificada.
- Identificar los defectos metabólicos específicos en la hipervalinemia, la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, cetonuria de cadena ramificada intermitente, acidemia isovalérica y aciduria metilmalónica.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

En el capítulo previo se describieron la eliminación y el destino metabólico de los átomos de nitrógeno de los L-α-aminoácidos comunes. En este capítulo se abordarán los destinos metabólicos de los esqueletos de hidrocarburo resultantes de estos aminoácidos. Aquí se comentan las enzimas y los intermediarios que se forman durante la conversión de los esqueletos de carbono en intermediarios anfibólicos, y varias enfermedades metabólicas o “errores congénitos del metabolismo” asociados con estos procesos. Si bien casi todos los trastornos del catabolismo de aminoácidos son raros, si se dejan sin tratamiento pueden dar lugar a daño cerebral irreversible y mortalidad temprana. Así, la detección prenatal o posnatal temprana de trastornos metabólicos, y el inicio oportuno de tratamiento son esenciales. La capacidad para detectar las actividades de enzimas en células de líquido amniótico cultivadas facilita el diagnóstico prenatal mediante amniocentesis. En todos los estados de la Unión Americana ahora se realizan pruebas de detección en recién nacidos para hasta 30 enfermedades metabólicas. Estas pruebas incluyen, pero no se limitan a, trastornos asociados con defectos del catabolismo de aminoácidos. En las pruebas de detección más fiables se usa espectrometría de masa en tándem para detectar, en algunas gotas de sangre del recién nacido, catabolitos sugestivos de un defecto metabólico dado. Los metabolitos detectados identifican con precisión el defecto metabólico como la disminución de la actividad de una enzima dada o la falta de la misma. El tratamiento consta principalmente de dietas bajas en el aminoácido cuyo catabolismo está alterado.

Las mutaciones en los exones o en las regiones reguladoras de un gen que codifica para una enzima del metabolismo de aminoácido pueden dar por resultado fracaso para sintetizar esa

enzima, o la síntesis de una enzima parcial, o completamente, no funcional. Las mutaciones pueden no tener efecto importante sobre la actividad de la enzima codificada. En contraste, las mutaciones que alteran la estructura tridimensional general o la estructura de sitios catalíticos o reguladores pueden asociarse con consecuencias metabólicas adversas. La eficiencia catalítica baja de una enzima mutante puede depender de posición alterada de residuos involucrados en la catálisis, o en la unión a un sustrato, coenzima o ion metálico. Las mutaciones también pueden alterar la capacidad de ciertas enzimas para mostrar respuesta apropiada a las señales que modulan su actividad al alterar la afinidad de una enzima por un regulador de actividad alostérico. Dado que diferentes mutaciones pueden tener efectos similares sobre cualquiera de los factores anteriores, diversas mutaciones pueden dar lugar a los mismos signos y síntomas clínicos. Por ende, en el ámbito molecular, estas son enfermedades moleculares separadas. Para complementar el estudio de los trastornos del metabolismo de aminoácidos que se comentan en este capítulo, los lectores deben consultar obras de referencia importantes sobre este tema, como Scriver y colaboradores, 2001.

LOS AMINOÁCIDOS SON CATABOLIZADOS HACIA INTERMEDIARIOS PARA LA BIOSÍNTESIS DE CARBOHIDRATO Y LÍPIDO

En estudios nutricionales efectuados durante el periodo de 1920 a 1940, reforzados y confirmados por estudios realizados de 1940 a 1950 en los que se usaron aminoácidos marcados con isótopos, se estableció la interconvertibilidad de los átomos de carbono de grasa, carbohidrato y proteína. Estos estudios también revelaron que todo el esqueleto de carbono de cada aminoácido, o una porción del mismo, es convertible en carbohidrato (13 aminoácidos), grasa (un aminoácido), o tanto grasa como carbohidrato (cinco aminoácidos) (**cuadro 29-1**). En la **figura 29-1** se esbozan aspectos generales de estas interconversiones.

CUADRO 29–1 Destino de los esqueletos de carbono de los L-α-aminoácidos comunes

Convertido en intermediarios anfibólicos que forman			
Carbohidratos (glucogénicos)		**Grasa (cetogénico)**	**Glucógeno y grasa (glucogénico y cetogénico)**
Ala	Hip	Leu	Ile
Arg	Met		Lis
Asp	Pro		Fen
Cis	Ser		Trp
Glu	Tre		Tir
Gli	Val		
His			

LA TRANSAMINACIÓN TÍPICAMENTE INICIA EL CATABOLISMO DE AMINOÁCIDOS

La eliminación de un nitrógeno α-amino por transaminación, una reacción catalizada por una aminotransferasa o transaminasa (figura 28-6), es la primera reacción catabólica de todos los aminoácidos comunes excepto la prolina, hidroxiprolina, treonina o lisina. El esqueleto de hidrocarburo que permanece, a continuación es degradado hacia intermediarios anfibólicos (figura 29-1).

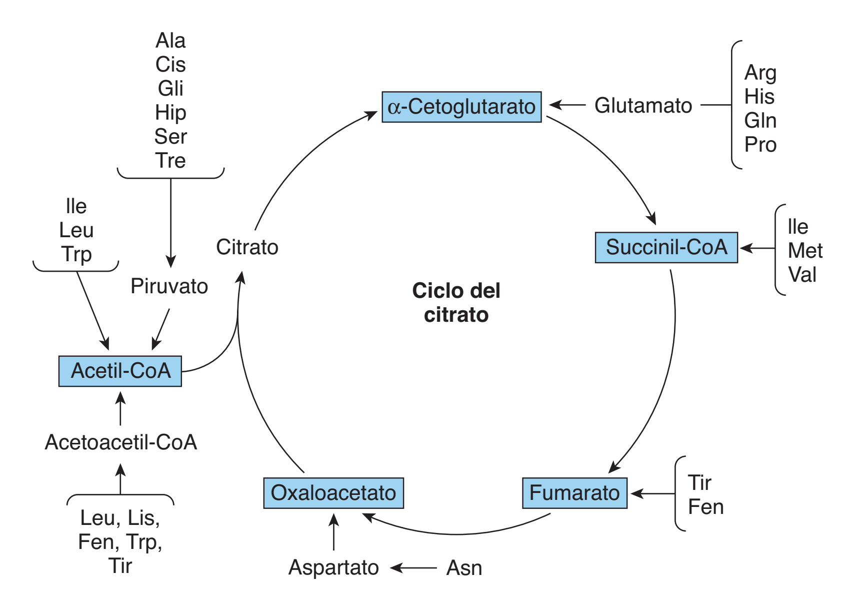


FIGURA 29–1 **Perspectiva general de los intermediarios anfibólicos que se producen por catabolismo de los aminoácidos comunes.**

FIGURA 29–2 Catabolismo a intermediarios anfibólicos de la L-asparagina (*arriba*) y la L-glutamina (*abajo*). (PIR, piruvato; ALA, L-alanina.) En esta figura y en figuras subsiguientes, las partes resaltadas en azul recalcan las porciones de las moléculas que están pasando por cambio químico.

La asparagina y el aspartato forman oxaloacetato

Los cuatro carbonos de la asparagina y del aspartato forman **oxaloacetato** mediante reacciones catalizadas por la **asparaginasa** y una **transaminasa** (**figura 29-2**, arriba). Los defectos metabólicos en transaminasas, que satisfacen funciones anfibólicas fundamentales, pueden ser incompatibles con la vida. En consecuencia, ningún defecto metabólico conocido se asocia con esta vía catabólica corta.

La glutamina y el glutamato forman α-cetoglutarato

El catabolismo de la glutamina y del glutamato corre parejas con el de la asparagina y el aspartato en reacciones catalizadas por **glutaminasa** y **transaminasa** que forman **α-cetoglutarato** (**figura 29-2**, abajo). Si bien el glutamato y aspartato son sustratos para la misma transaminasa, la desaminación de sus amidas correspondientes es catalizada por diferentes enzimas: asparaginasa y glutaminasa. Posiblemente por la razón antes mencionada, no hay defectos metabólicos conocidos de la vía catabólica de la glutamina-glutamato.

Sin embargo, trastornos metabólicos importantes se asocian con el catabolismo de muchos otros aminoácidos. Estos trastornos, que se comentan bajo el catabolismo de cada aminoácido, se resumen en el **cuadro 29-2**. En este cuadro se listan la enzima alterada, su número de catálogo de enzima (EC) IUB, una referencia cruzada a una figura y una reacción numerada específica, y un enlace a la base de datos Online Mendelian Inheritance in Man **(OMIM).**

Prolina

El catabolismo de la prolina tiene lugar en las mitocondrias. Dado que la prolina no participa en la transaminación, el nitrógeno de este iminoácido se retiene de principio a fin de su oxidación hacia Δ^1-pirrolina-5-carboxilato, abertura del anillo hacia glutamato-γ-semialdehído, y oxidación hacia glutamato, y sólo se elimina durante la transaminación de glutamato hacia α-cetoglutarato (**figura 29-3**). Hay dos trastornos metabólicos del catabolismo de la prolina. Ambos tipos se heredan como rasgos autosómicos recesivos, y son congruentes con una vida adulta normal. El bloqueo metabólico en la **hiperprolinemia tipo I** está en la **prolina deshidrogenasa**. No hay deterioro relacionado del catabolismo de la hidroxiprolina. El bloqueo metabólico en la **hiperprolinemia tipo II** está en la **glutamato-γ-semialdehído deshidrogenasa**, una enzima de la matriz mitocondrial que también participa en el catabolismo de la arginina, ornitina e hidroxiprolina (véase más adelante). Puesto que hay afección del catabolismo tanto de la prolina como de la hidroxiprolina, se excretan tanto Δ^1-pirrolina-5-carboxilato como Δ^1-pirrolina-3-hidroxi-5-carboxilato (figura 29-12).

Arginina y ornitina

Las reacciones iniciales en el catabolismo de la arginina son conversión de ornitina seguida por transaminación de ornitina a glutamato-γ-semialdehído (**figura 29-4**). El catabolismo subsiguiente de este último a **α-cetoglutarato** ocurre como se describió para la prolina (figura 29-3). Las mutaciones en la **ornitina δ-aminotransferasa** (ornitina transaminasa) aumentan las concentraciones plasmática y urinaria de ornitina y se asocian con **atrofia girada de la coroides y la retina**. El tratamiento comprende restringir la arginina en la dieta. En el **síndrome de hiperornitinemia-hiperamonemia**, un **antiportador de ornitina-citrulina** mitocondrial defectuoso (figura 28-13) altera el transporte de la ornitina hacia mitocondrias para uso en la síntesis de urea.

Histidina

El catabolismo de la histidina procede mediante el urocanato, 4-imidazolona-5-propionato, y *N*-formiminoglutamato (Figlu). La transferencia del grupo formimino hacia el tetrahidrofolato forma glutamato, y luego **α-cetoglutarato** (**figura 29-5**). En la deficiencia de ácido fólico, la transferencia del grupo formimino está alterada, y se excreta Figlu. Así, la excreción de Figlu después de una dosis de histidina puede usarse para detectar deficiencia de ácido fólico. Los trastornos benignos del catabolismo de la histidina son la **histidinemia** y la **aciduria urocánica** relacionadas con **histidasa** alterada.

CUADRO 29–2 Enfermedades metabólicas del metabolismo de aminoácidos

Enzima defectuosa	Número de catálogo de enzima	Referencia de la OMIM[1]	Principales signos y síntomas	Figura y reacción
S-Adenosilhomocisteína hidrolasa	3.3.1.1	180960	Hipermetioninemia	29–19 ③
Arginasa	3.5.3.1	207800	Argininemia	29–4 ①
Cistationina-β-sintasa	4.2.1.22	236200	Homocistinuria	29–19 ④
Fumarilacetoacetato hidrolasa	3.7.1.12	276700	Tirosinemia tipo I (tirosinosis)	29–13 ④
Glicina *N*-metil-transferasa	2.1.1.20	606664	Hipermetioninemia	29–13 ②
Histidina amoniaco liasa (histidasa)	4.3.1.3	609457	Histidinemia y acidemia urocánica	29–5 ①
Homogentisato oxidasa	1.13.11.5	607474	Alcaptonuria. Excreción de homogentisato	29–13 ③
p-Hidroxifenilpiruvato hidroxilasa	1.13.11.27	276710	Tirosinemia neonatal	29–13 ②
Isovaleril-CoA deshidrogenasa	1.3.99.10	607036	Acidemia isovalérica	29–20 ③
Complejo de α-cetoácido descarboxilasa de cadena ramificada		248600	Cetonuria de cadena ramificada (MSUD)	29–20 ①
Metionina adenosiltransferasa	2.5.1.6	250850	Hípermetioninemia	29-18 ①
Ornitina-δ-aminotransferasa	2.6.1.13	258870	Ornitemia, atrofia girada	29–4 ②
Fenilalanina hidroxilasa	1.14.16.1	261600	Fenilcetonuria clásica, tipo I	27–10 ①
Prolina deshidrogenasa	1.5.99.8	606810	Hiperprolinemia tipo I	29–3 ①
Δ^1-Pirrolina-5-carboxilato deshidrogenasa	1.5.1.12	606811	Hiperprolinemia tipo II e hiper 4-hidroxiprolinemia	29–3 ②
Sacaropina deshidrogenasa	1.5.1.7	268700	Sacaropinuria	29–15 ②
Tirosina aminotransferasa	2.6.1.15	613018	Tirosinemia tipo II	29–13 ①

[1]Online Mendelian Inheritance in Man database: ncbi.nlm.nih.gov/omim/

L-Prolina
Prolina deshidrogenasa
NAD^+ → $NADH + H^+$
Δ^1-Pirrolina-5-carboxilato
H_2O
L-Glutamato-γ-semialdehído
Glutamato semialdehído deshidrogenasa
NAD^+ → $NADH + H^+$
L-Glutamato
Transaminasa
Pir → Ala
α-Cetoglutarato

FIGURA 29–3 Catabolismo de la prolina. Las barras de color rojo y los números en un círculo indican el locus de los defectos metabólicos hereditarios en la ① hiperprolinemia tipo I y ② hiperprolinemia tipo II.

L-Arginina
H_2O
Arginasa
Urea
L-Ornitina
α-KG → Glu
Ornitina δ-aminotransferasa
L-Glutamato-γ-semialdehído

FIGURA 29–4 Catabolismo de la arginina. La división de la L-arginina, catalizada por la arginasa, forma urea y L-ornitina. Esta reacción (barra roja) representa el sitio del defecto metabólico hereditario en la hiperargininemia. La transaminación subsiguiente de la L-ornitina hacia glutamato-γ-semialdehído va seguida por conversión hacia α-cetoglutarato (figura 29-3).

CATABOLISMO DE LA GLICINA, SERINA, ALANINA, CISTEÍNA, TREONINA Y 4-HIDROXIPROLINA

Glicina

El **complejo de división de glicina** de las mitocondrias hepáticas divide la glicina en CO_2 y NH_4^+, y forma N^5,N^{10}-metileno-tetrahidrofolato.

$$\text{Glicina} + H_4\,\text{folato} + NAD^+ \rightarrow CO_2 + NH_3$$
$$+\ 5,10\text{-}CH_2\text{-}H_4\text{folato} + NADH + H^+$$

El sistema de división de glicina (**figura 29-6**) consta de tres enzimas, y una “proteína H” que tiene una porción dihidrolipoilo fija de modo covalente. En la figura 29-6 también se ilustran las reacciones individuales y los intermediarios en la división de la glicina. En la **hiperglicinemia no cetósica**, un raro error congénito de la degradación de la glicina que hoy únicamente se conoce en Finlandia, la glicina se acumula en todos los tejidos corporales, incluso el sistema nervioso central. El defecto en la **hiperoxaluria primaria** es el fracaso para catabolizar el glioxilato que se forma por la desaminación de la glicina. La oxidación subsiguiente de glioxilato hacia oxalato causa urolitiasis, nefrocalcinosis, y mortalidad temprana por insuficiencia renal o hipertensión. La **glicinuria** depende de un defecto de la resorción en los túbulos renales.

Serina

Luego de conversión en glicina, catalizada por la **serina hidroximetiltransferasa**, el catabolismo de la serina se fusiona con el de la glicina (**figura 29-7**).

Alanina

La transaminación de α-alanina forma piruvato. Probablemente a causa de su participación fundamental en el metabolismo, no hay un defecto metabólico conocido del catabolismo de la α-alanina.

Cistina y cisteína

La cistina es reducida primero hacia cisteína por la **cistina reductasa** (**figura 29-8**). A continuación dos vías convierten a la cisteína en piruvato (**figura 29-9**). Hay muchas anormalidades del metabolismo de la cisteína. La cistina, lisina, arginina y ornitina se excretan en la **cistina-lisinuria (cistinuria)**, un defecto de la resorción renal de estos aminoácidos. Salvo por la formación de cálculos de cistina, la cistinuria es benigna. El disulfuro

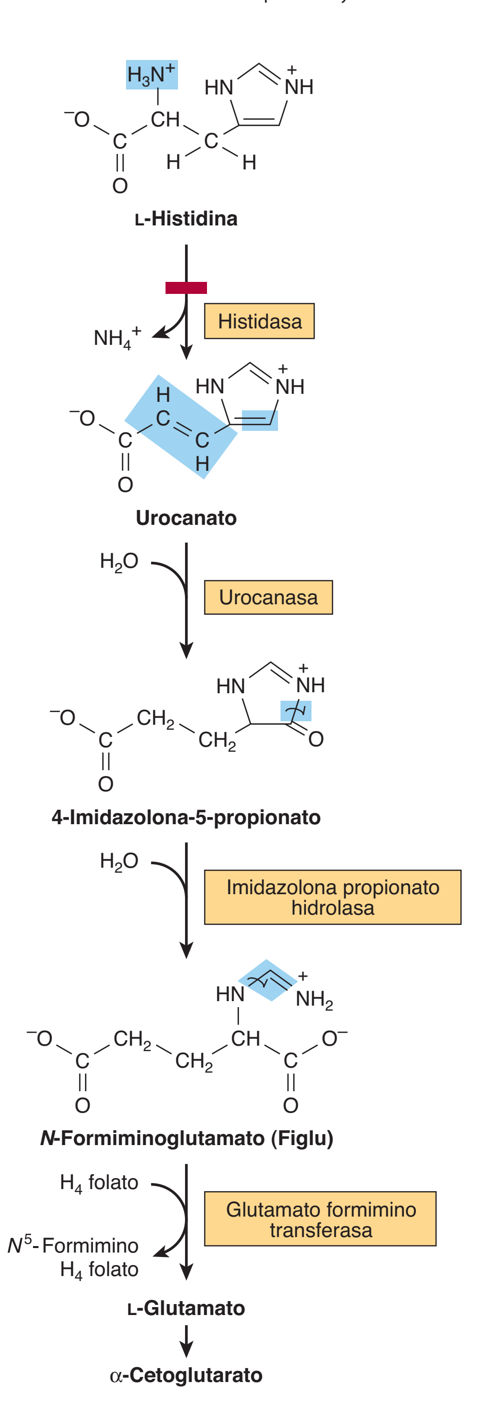


FIGURA 29–5 Catabolismo de L-histidina hacia α-cetoglutarato. (H_4 folato, tetrahidrofolato.) La barra roja indica el sitio de un defecto metabólico hereditario.

mixto de la L-cisteína y la L-homocisteína (**figura 29-10**) excretado por pacientes cistinúricos es más soluble que la cistina, y reduce la formación de cálculos de esta última.

Varios defectos metabólicos ocasionan **homocistinurias** con o sin capacidad de respuesta a la vitamina B_6. Éstos incluyen una deficiencia de la reacción catalizada por la cistationina β-sintasa:

$$\text{Serina} + \text{homocisteína} \rightarrow \text{cistationina} + H_2O$$

Las consecuencias son osteoporosis y retraso mental. El transporte mediado por acarreador, defectuoso, de cistina, da por resultado **cistinosis (enfermedad por depósito de cistina)** con

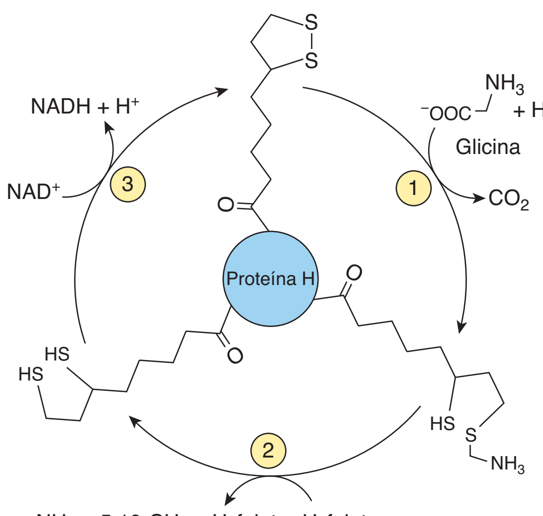


FIGURA 29–6 El sistema de división de glicina de las mitocondrias hepáticas. El complejo de división de glicina consta de tres enzimas y una "proteína H" que tiene dihidrolipoato fijo de modo covalente. Los catalíticos para las reacciones numeradas son ① glicina deshidrogenasa (descarboxilante), ② una aminometiltransferasa formadora de amoniaco y ③ dihidrolipoamida deshidrogenasa. (H_4 folato, tetrahidrofolato.)

depósito de cristales de cistina en los tejidos, y muerte temprana por insuficiencia renal aguda. Datos epidemiológicos y de otros tipos enlazan a las concentraciones plasmáticas de homocisteína con el riesgo cardiovascular, pero persisten las controversias acerca de la participación de la homocisteína como un factor de riesgo cardiovascular causal.

Treonina

La treonina aldolasa divide la treonina hacia acetaldehído y glicina. Ya se comentó en el catabolismo de la glicina. La oxidación del acetaldehído hacia acetato va seguida por formación de acetil-CoA (**figura 29-11**).

4-Hidroxiprolina

El catabolismo de la 4-hidroxi-L-prolina forma, de manera sucesiva, L-Δ^1-pirrolina-3-hidroxi-5-carboxilato, γ-hidroxi-L-glutamato-γ-semialdehído, eritro-γ-hidroxi-L-glutamato, y α-ceto-γ-hidroxiglutarato. A continuación una división tipo aldol forma glioxilato más piruvato (**figura 29-12**). Un defecto de la **4-hidroxiprolina deshidrogenasa** origina **hiperhidroxiprolinemia**, que es benigna. No hay deterioro relacionado del catabolismo de la

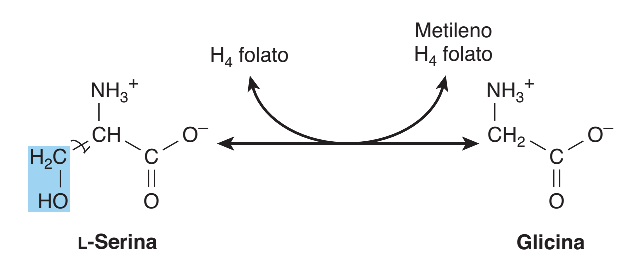


FIGURA 29–7 Interconversión de serina y glicina por la serina hidroximetiltransferasa. (H_4 folato, tetrahidrofolato.)

L-Cistina
Cistina reductasa
NADH + H^+
NAD^+
2 L-Cisteína

FIGURA 29–8 Reducción de cistina cisteína en la reacción de la cistina reductasa.

prolina. Como se mencionó en la sección sobre prolina, un defecto de la glutamato-γ-semialdehído deshidrogenasa se acompaña de excreción de Δ^1-pirrolina-3-hidroxi-5-carboxilato.

OTROS AMINOÁCIDOS QUE FORMAN ACETIL-CoA

Tirosina

En la **figura 29-13** se ilustran los intermediarios y las enzimas que participan en el catabolismo de la tirosina hacia intermediarios anfibólicos. Después de transaminación de tirosina hacia *p*-hidroxifenilpiruvato, reacciones sucesivas forman maleilacetoacetato, fumarilacetoacetato, fumarato, acetoacetato, y finalmente acetil-CoA y acetato.

Varios trastornos metabólicos se asocian con la vía catabólica de la tirosina. El defecto metabólico probable en la **tirosinemia tipo I (tirosinosis)** está en la **fumarilacetoacetato hidrolasa** (reacción 4, figura 29-1). En la terapia se emplea una dieta baja en tirosina y fenilalanina. La tirosinosis aguda y crónica no tratada conduce a muerte por insuficiencia hepática. Los metabolitos alternativos de la tirosina también se excretan en la **tirosinemia tipo II (síndrome de Richner-Hanhart)**, un defecto de la **tirosina aminotransferasa** (reacción 1, figura 29-13), y en la **tirosinemia neonatal**, debida a la actividad aminorada de la *p*-hidroxifenilpiruvato hidroxilasa (reacción 2, figura 29-13). En la terapia se emplea una dieta con bajo contenido de proteína.

El defecto metabólico en la **alcaptonuria** es un defecto en la **homogentisato oxidasa**, la enzima que cataliza la reacción 3 de la figura 29-13. La orina se oscurece cuando queda expuesta al aire, debido a oxidación del homogentisato excretado. En etapas tardías de la enfermedad hay artritis y pigmentación del tejido conjuntivo (ocronosis) debido a oxidación de homogentisato hacia acetato de benzoquinona, que se polimeriza y se une al tejido conjuntivo. Descrita por vez primera en el siglo XVI con

Cisteína
Cisteína dioxigenasa
$[O_2]$
Cisteína sulfinato
Transaminasa
α-Cetoácido
α-Aminoácido
Sulfinilpiruvato
Desulfinasa
SO_3^{2-}
Piruvato

Cisteína
Transaminasa
α-KA
α-AA
3-Mercaptopiruvato (tiolpiruvato)
2H
H_2S
NADH + H^+
NAD^+
Piruvato
3-Mercaptolactato

FIGURA 29–9 Dos vías catabolizan la L-cisteína: la vía de la sulfinato cisteína (*arriba*) y la vía del 3-mercaptopiruvato (*abajo*).

(Cisteína) (Homocisteína)

FIGURA 29–10 Estructura del disulfuro mixto de la cisteína y la homocisteína.

base en la observación de que la orina se oscurecía con la exposición al aire, la alcaptonuria proporcionó la base para las ideas clásicas de sir Archibald Garrod a principios del siglo XX respecto a trastornos metabólicos hereditarios. Con base en la presencia de ocronosis, y en evidencia química, el caso más temprano conocido de alcaptonuria es su detección en 1977 en una momia egipcia que data de 1500 a.C.

Fenilalanina

La fenilalanina es convertida primero en tirosina (figura 27-10). Las reacciones subsiguientes son las de la tirosina (figura 29-13). Las **hiperfenilalaninemias** surgen por defectos de la fenilalanina hidroxilasa (**fenilcetonuria** o **PKU clásica**, **tipo I**, frecuencia de 1 por cada 10 000 nacimientos), de la dihidrobiopterina reductasa **(tipos II y III)**, o de la biosíntesis de la dihidrobiopterina **(tipos IV y V)** (ver figura 27.10). Se excretan metabolitos alternativos (**figura 29-14**). Una dieta con poca fenilalanina puede evitar el retraso mental propio de la PKU.

Las sondas de DNA facilitan el diagnóstico prenatal de defectos de la fenilalanina hidroxilasa o de la dihidrobiopterina reductasa. Las cifras sanguíneas altas de fenilalanina pueden no ser detectables sino hasta 3 a 4 días después del nacimiento. Los

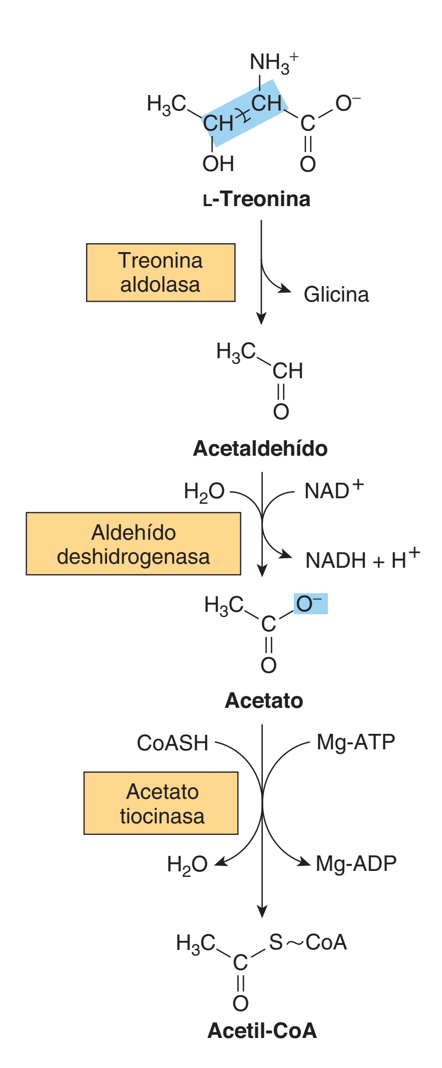


FIGURA 29–11 Intermediarios en la conversión de treonina en glicina y acetil-CoA.

4-Hidroxi-L-prolina
Hidroxiprolina deshidrogenasa
2H
L-Δ^1-Pirrolina-3-hidroxi-5-carboxilato
H_2O
No enzimática
γ-Hidroxi-L-glutamato-γ-semialdehído
NAD^+
H_2O
Deshidrogenasa
$NADH + H^+$
Eritro-γ-hidroxi-L-glutamato
α-KA
Transaminasa
α-AA
α-Ceto-γ-hidroxiglutarato
Una aldolasa
Glioxilato
Piruvato

FIGURA 29–12 Intermediarios en el catabolismo de la L-hidroxiprolina. (α-AA, α-aminoácido; α-KA, α-cetoácido.) Las barras rojas indican los sitios de los defectos metabólicos hereditarios en la ① hiperhidroxiprolinemia y ② hiperprolinemia tipo II.

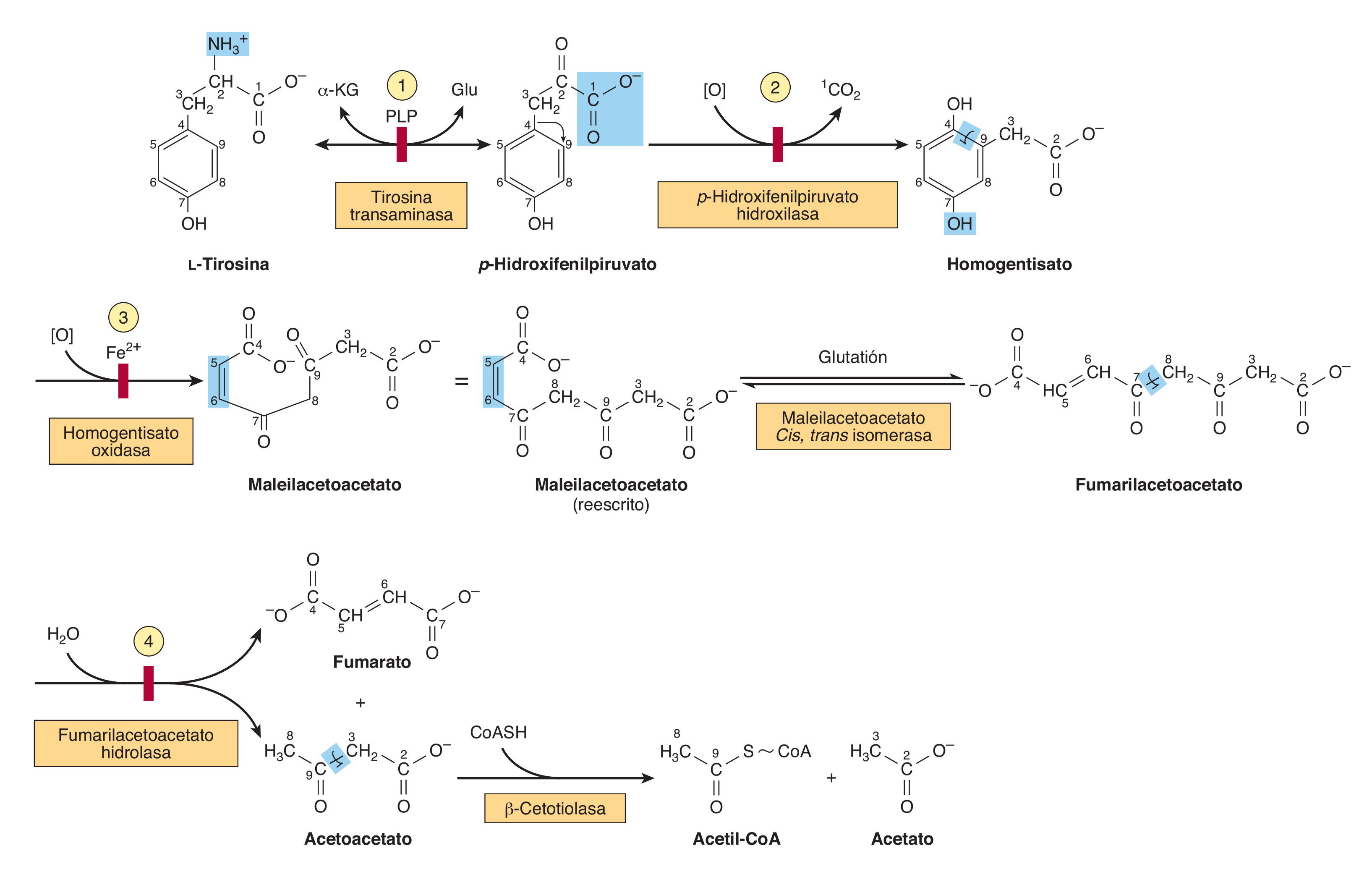


FIGURA 29–13 Intermediarios en el catabolismo de la tirosina. Los carbonos están numerados para recalcar su destino final. (α-KG, α-cetoglutarato; Glu, glutamato; PLP, fosfato de piridoxal.) Las barras rojas indican los sitios probables de los defectos metabólicos hereditarios en ① la tirosinemia tipo II; ② tirosinemia neonatal; ③ alcaptonuria, y ④ tirosinemia tipo I, o tirosinosis.

L-Fenilalanina

Transaminasa

α-Cetoglutarato

L-Glutamato

Fenilpiruvato

NAD^+ $NADH + H^+$ H_2O CO_2

$NADH + H^+$ NAD^+

Fenilacetato

Fenilactato

L-Glutamina H_2O

Fenilacetilglutamina

FIGURA 29–14 Vías alternativas del catabolismo de la fenilalanina en la fenilcetonuria. Las reacciones también suceden en el tejido hepático normal, pero tienen importancia menor.

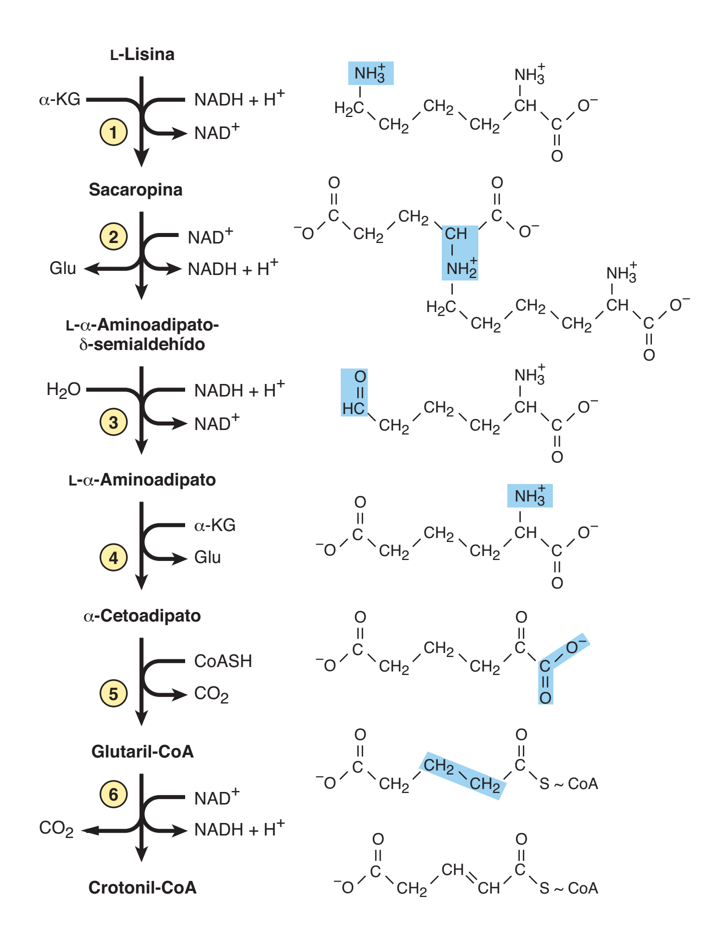


FIGURA 29–15 Reacciones e intermediarios en el catabolismo de la L-lisina.

resultados positivos falsos en prematuros pueden reflejar retraso de la maduración de las enzimas del catabolismo de la fenilalanina. En una prueba de detección más antigua y menos fiable se emplea $FeCl_3$ para detectar fenilpiruvato urinario. El análisis de la orina de recién nacidos con $FeCl_3$, para detección de PKU, es obligatorio en muchos países, pero en Estados Unidos ha quedado suplantado en su mayor parte por la espectrometría de masa en tándem.

Lisina

Las primeras seis reacciones del catabolismo de la L-lisina en el hígado humano forman la crotonil-CoA, que luego se degrada hacia acetil-CoA y CO_2 por medio de las reacciones del catabolismo de ácidos grasos (figura 22-3). A partir de aquí, los números en círculo aluden a las reacciones numeradas correspondientes de la **figura 29-15**. Las reacciones 1 y 2 convierten la base de Schiff que se forma entre α-cetoglutarato y el grupo ε-amino de la lisina en L-α-aminoadipato-δ-semialdehído. Las reacciones 1 y 2 son catalizadas por una enzima bifuncional única, la aminoadipato semialdehído sintasa (también denominada lisina 2-oxoglutarato reductasa-sacaropina deshidrogenasa). La reducción de L-α-aminoadipato-δ-semialdehído hacia L-α-aminoadipato (reacción 3) va seguida por transaminación hacia α-cetoadipato (reacción 4). La conversión en el tioéster glutaril-CoA (reacción 5) va seguida por la descarboxilación de glutaril-CoA hacia crotonil-CoA (reacción 6). Las reacciones subsiguientes son las del catabolismo de ácidos grasos.

Los defectos metabólicos relacionados con reacciones de la vía catabólica de la lisina comprenden hiperlisinemias. La hiperlisinemia puede depender de un defecto de la actividad 1 o 2 de la enzima bifuncional aminoadipato semialdehído sintasa. La hiperlisinemia sólo se acompaña de concentraciones altas de sacaropina en la sangre si el defecto afecta la actividad 2. Un defecto metabólico en la reacción 6 suscita una enfermedad metabólica hereditaria que muestra vínculo con degeneración del cuerpo estriado, y cortical, y que se caracteriza por cifras altas de glutarato y sus metabolitos, glutaconato y 3-hidroxiglutarato. El desafío en el manejo de estos defectos metabólicos es restringir la ingestión de L-lisina en la dieta sin producir malnutrición.

Triptófano

Se degrada hacia intermediarios anfibólicos mediante la vía de la quinurenina-antranilato (**figura 29-16**). La **triptófano oxigenasa**

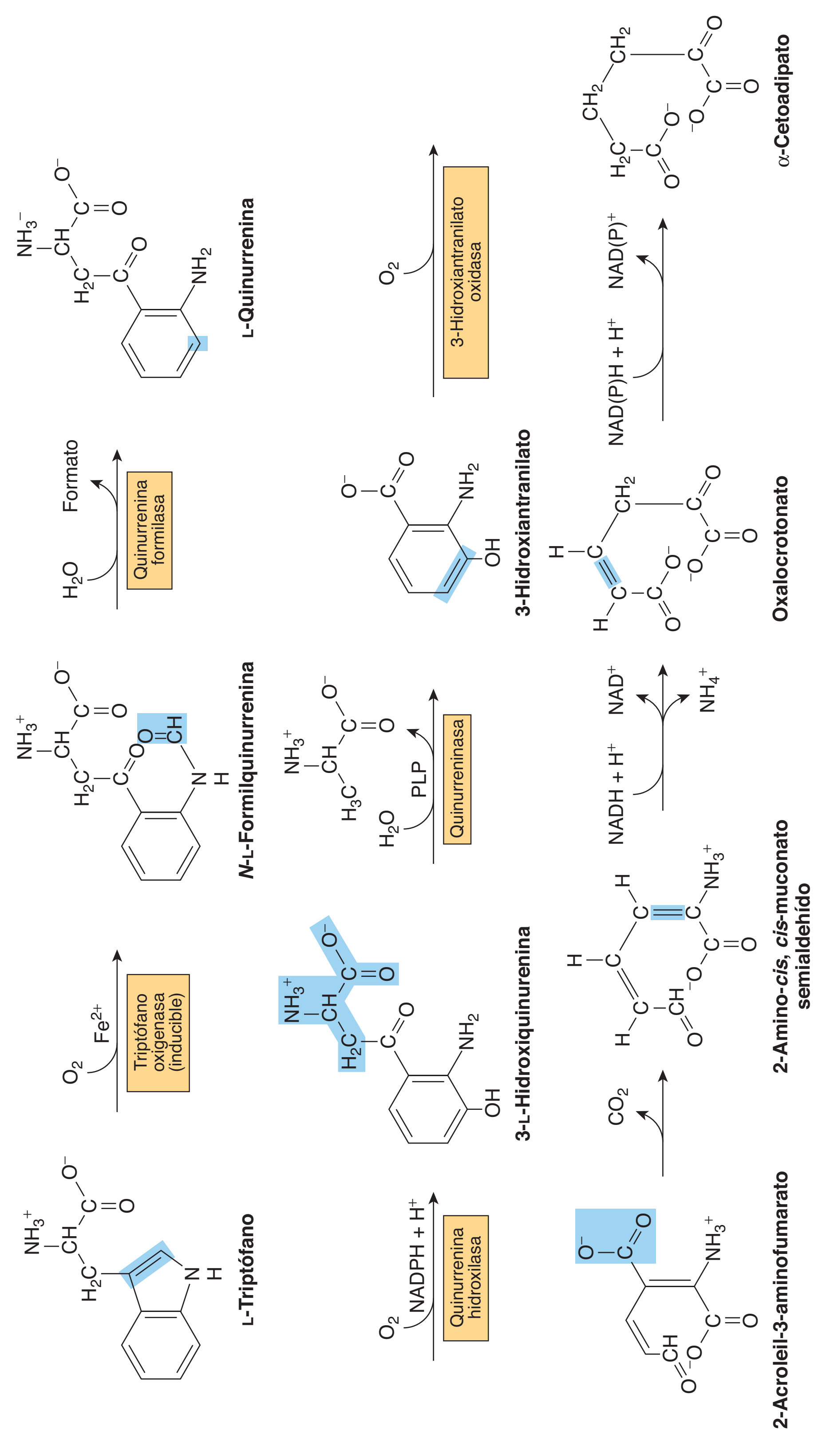


FIGURA 29–16 **Reacciones en intermediarios y en el catabolismo del L-triptófano.** (PLP, fosfato de piridoxal.)

3-Hidroxiquinurrenina

NH_4^+

Xanturenato

FIGURA 29–17 Formación de xanturenato en la deficiencia de vitamina B_6. La conversión del metabolito del triptófano 3-hidroxiquinurrenina en 3-hidroxiantranilato está alterada (figura 29-16). En consecuencia, una porción grande se convierte en xanturenato.

(triptófano pirrolasa) abre el anillo indol, incorpora oxígeno molecular, y forma *N*-formilquinurrenina. La triptófano oxigenasa, una metaloproteína de porfirina de hierro que es inducible en el hígado por los corticosteroides suprarrenales y por el triptófano, es inhibida por retroacción por derivados del ácido nicotínico, incluso NADPH. La eliminación hidrolítica del grupo formilo de la *N*-formilquinurrenina, catalizada por la **quinurrenina formilasa**, produce quinurrenina. Dado que la **quinurreninasa** requiere fosfato de piridoxal, la excreción de xanturenato (**figura 29-17**) en respuesta a una carga de triptófano es diagnóstica de deficiencia de vitamina B_6. La **enfermedad de Hartnup** refleja alteración del transporte intestinal y renal de triptófano y de otros aminoácidos neutros. Los derivados indol del triptófano no absorbido formados por las bacterias intestinales se excretan. El defecto limita la disponibilidad de triptófano para la biosíntesis de niacina, y explica los signos y síntomas parecidos a pelagra.

Metionina

La metionina reacciona con la *S*-adenosilmetionina formadora de ATP, la "metionina activa" (**figura 29-18**). Las reacciones subsiguientes forman propionil-CoA (**figura 29-19**), a la cual tres reacciones subsiguientes convierten en succinil-CoA (figura 20-2).

LAS REACCIONES INICIALES SON COMUNES A LOS TRES AMINOÁCIDOS DE CADENA RAMIFICADA

Las primeras tres reacciones del catabolismo de la isoleucina, leucina y valina (**figura 29-20**) son análogas a las reacciones del catabolismo de ácidos grasos (figura 22-3). Después de la transaminación (figura 29-20, reacción 1) los esqueletos de carbono de los alfa-cetoácidos resultantes pasan por descarboxilación oxidativa, y conversión en tioésteres de coenzima A. Este proceso de múltiples pasos es catalizado por el **complejo de α-cetoácido deshidrogenasa de cadena ramificada mitocondrial**, cuyos componentes son idénticos desde el punto de vista funcional a los del complejo de la piruvato deshidrogenasa (PDH) (figura 18-5). Al igual que la PDH, dicho complejo consta de cinco componentes.

L-Metionina + ATP → (H_2O; $P_i + PP_i$) L-Metionina adenosiltransferasa → *S*-Adenosil-L-metionina ("metionina activa")

FIGURA 29–18 Formación de *S*-adenosilmetionina. ~CH_3 representa el alto potencial de transferencia de grupo de la "metionina activa".

FIGURA 29–19 **Conversión de metionina en propionil-CoA.**

E1: α-cetoácido descarboxilasa de cadena ramificada dependiente de pirofosfato de tiamina (TPP).

E2: dihidrolipoil transacilasa (contiene lipoamida).

E3: dihidrolipoamida deshidrogenasa (contiene FAD).

Proteína cinasa.

Proteína fosfatasa.

Al igual que para la PDH (figura 18-6 [B]), la proteína cinasa y la proteína fosfatasa regulan la actividad del complejo de α-cetoácido deshidrogenasa de cadena ramificada por medio de fosforilación (desactivación) y desfosforilación (activación).

La deshidrogenación de los tioésteres de coenzima A resultantes (reacción 3, figura 29-20) procede como la deshidrogenación de tioésteres de acil-CoA grasos derivados de lípido (figura 22-3). En las **figuras 29-21**, **29-22** y **29-23** se presentan reacciones subsiguientes que son singulares para cada esqueleto de aminoácido.

TRASTORNOS METABÓLICOS DEL CATABOLISMO DE AMINOÁCIDOS DE CADENA RAMIFICADA

Como su nombre lo indica, el olor de la orina en la **enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (cetonuria de cadena ramificada**, o **MSUD)** sugiere jarabe de arce, o azúcar quemada. El defecto bioquímico en la MSUD involucra el **complejo de la α-cetoácido descarboxilasa** (reacción 2, figura 29-20). Las concentraciones plasmática y urinaria de leucina, isoleucina, valina y sus α-cetoácidos y α-hidroxiácidos (α-cetoácidos reducidos) están altas, pero los cetoácidos urinarios se derivan principalmente de la leucina. Los signos y síntomas de la MSUD son cetoacidosis a menudo mortal, alteraciones neurológicas, retraso mental, y orina con olor a jarabe de arce. Se desconoce el mecanismo de toxicidad.

El diagnóstico temprano mediante análisis enzimático es esencial para evitar daño cerebral y mortalidad temprana al remplazar la proteína de la dieta por una mezcla de aminoácidos que carezca de leucina, isoleucina y valina.

Las características de genética molecular de la MSUD son heterogéneas. La MSUD puede producirse por mutaciones en los genes que codifican para E1α, E1β, E2 y E3. Con base en el locus afectado, se reconocen subtipos genéticos de MSUD. La MSUD tipo IA surge por mutaciones en el gen que codifica para E1α, la tipo IB en el gen E1β, la tipo II en el gen E2, y la tipo III en el gen E3 (**cuadro 29-3**).

En la **cetonuria de cadena ramificada intermitente**, la α-cetoácido descarboxilasa retiene algo de actividad, y los síntomas aparecen en etapas más avanzadas de la vida. En la **acidemia isovalérica**, la ingestión de alimentos ricos en proteína aumenta el isovalerato, el producto de desacetilación de la isovaleril-CoA. La enzima alterada en la **acidemia isovalérica** es la **isovaleril-CoA deshidrogenasa** (reacción 3, figura 29-20). La ingestión de proteína excesiva va seguida por vómitos, acidosis y coma. La isovaleril-CoA acumulada es hidrolizada hacia isovalerato y excretada.

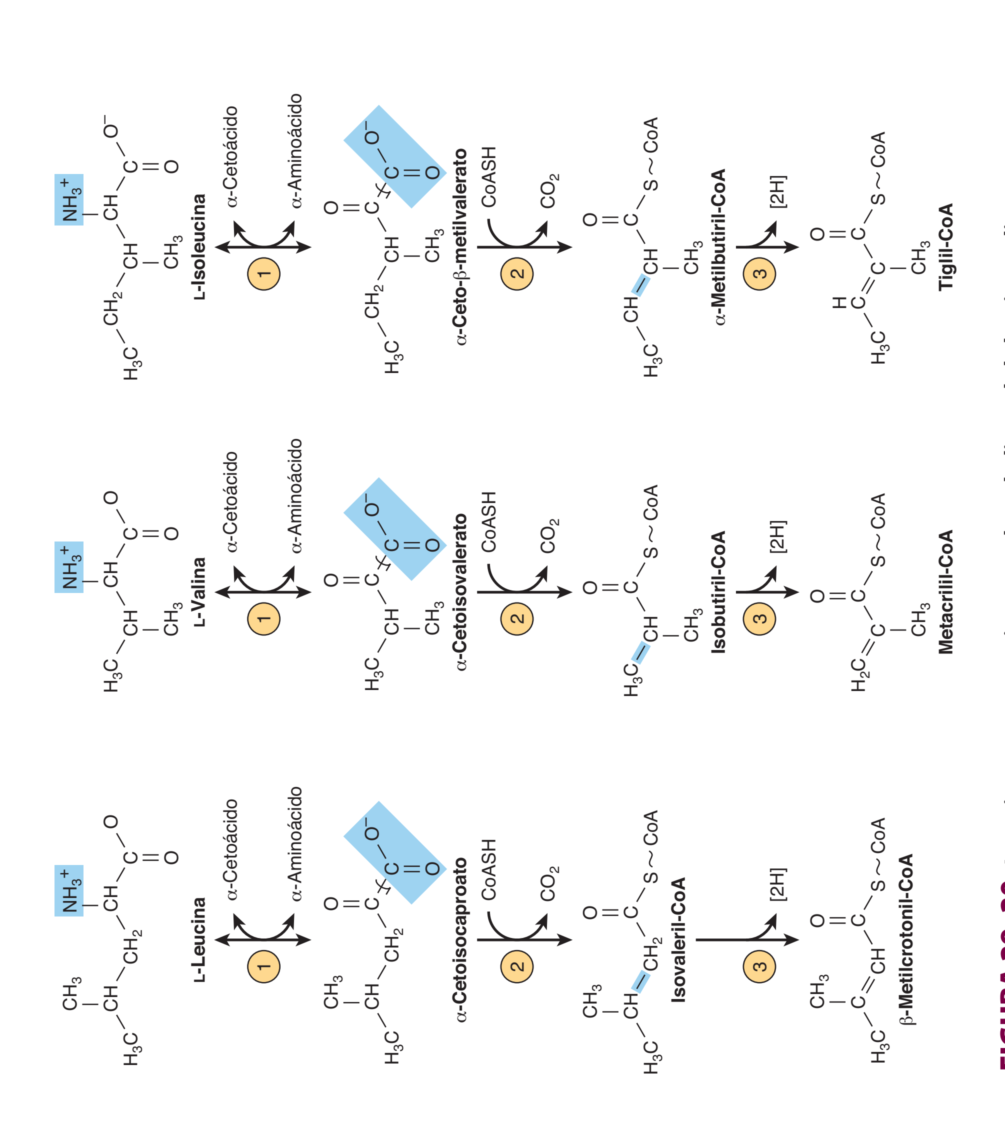


FIGURA 29–20 Las primeras tres reacciones en el catabolismo de la leucina, valina e isoleucina. Note también la analogía de las reacciones 2 y 3 con las reacciones del catabolismo de los ácidos grasos (figura 22-3). La analogía con el catabolismo de los ácidos grasos continúa, como se muestra en las figuras subsiguientes.

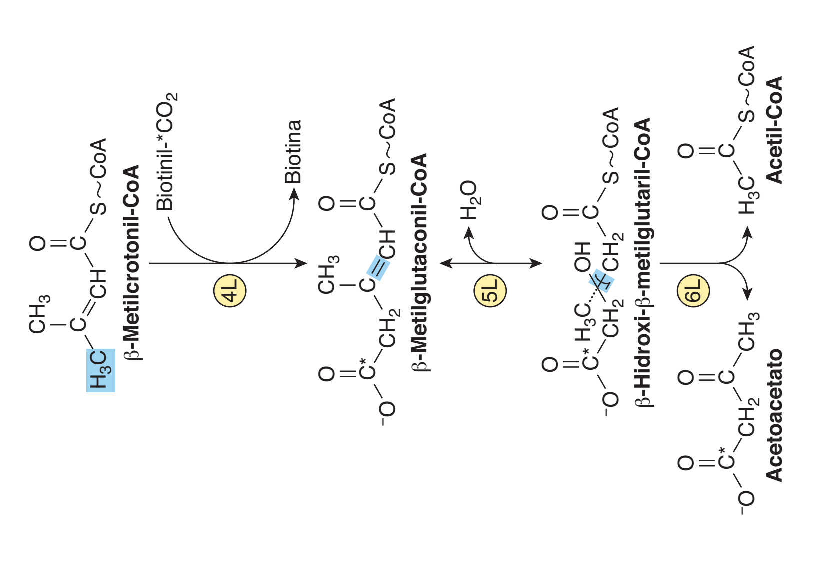


FIGURA 29–21 Catabolismo de la β-metilcrotonil-CoA formada a partir de la L-leucina. Los asteriscos indican átomos de carbono derivados del CO_2.

Tiglil-CoA

α-Metil-β-hidroxibutiril-CoA

α-Metilacetoacetil-CoA

Acetil-CoA **Propionil-CoA**

FIGURA 29–22 Catabolismo subsiguiente de la tiglil-CoA formada a partir de L-isoleucina.

Metacrilil-CoA

β-Hidroxiisobutiril-CoA

β-Hidroxiisobutirato

Metilmalonato semialdehído

Metilmalonil-CoA **β-Aminoisobutirato**

Succinil-CoA

FIGURA 29–23 Catabolismo subsiguiente de la metacrilil-CoA formada a partir de la L-valina (figura 29-20). (α-AA, α-aminoácido; α-KA, α-cetoácido.)

CUADRO 29–3 La enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce puede reflejar función alterada de diversos componentes del complejo de α-cetoácido descarboxilasa

Componente de la α-cetoácido descarboxilasa de cadena ramificada		Referencia de la OMIM[1]	Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce
E1α	α-Cetoácido descarboxilasa	608348	Tipo IA
E1β	α-Cetoácido descarboxilasa	248611	Tipo IB
E2	Dihidrolipoil transacilasa	608770	Tipo II
E3	Dihidrolipoamida deshidrogenasa	238331	Tipo III

[1]Online Mendelian Inheritance in Man database: ncbi.nlm.nih.gov/omim/

RESUMEN

- Los aminoácidos excesivos se catabolizan hacia intermediarios anfibólicos que sirven como fuentes de energía y para la biosíntesis de carbohidratos y lípidos.
- La transaminación es la reacción inicial más frecuente del catabolismo de aminoácidos. Las reacciones subsiguientes eliminan cualquier nitrógeno adicional y reestructuran los esqueletos de hidrocarburo para la conversión hacia oxaloacetato, α-cetoglutarato, piruvato y acetil-CoA.
- Las enfermedades metabólicas relacionadas con el catabolismo de la glicina son la glicinuria, y la hiperoxaluria primaria.
- Dos vías convierten la cistina en piruvato. Los trastornos metabólicos del catabolismo de la cisteína son la cistina-lisinuria, la enfermedad por depósito de cistina, y las homocistinurias.
- El catabolismo de la treonina se fusiona con el de la glicina luego de que la treonina aldolasa divide la treonina hacia glicina y acetaldehído.
- Después de transaminación, el esqueleto de carbono de la tirosina es degradado hacia fumarato y acetoacetato. Las enfermedades metabólicas del catabolismo de la tirosina son la tirosinosis, el síndrome de Richner-Hanhart, la tirosinemia neonatal y la alcaptonuria.
- Los trastornos metabólicos del catabolismo de la fenilalanina son la PKU y varias hiperfenilalaninemias.
- Ningún nitrógeno de la lisina pasa por transaminación directa. Sin embargo, el mismo efecto se logra por medio de la formación intermedia de sacaropina. Las enfermedades metabólicas del catabolismo de la lisina son formas periódica y persistente de hiperlisinemia-amonemia.
- El catabolismo de la leucina, valina e isoleucina presenta muchas analogías con el catabolismo de ácidos grasos. Los trastornos metabólicos del catabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada son la hipervalinemia, la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, la cetonuria de cadena ramificada intermitente, acidemia isovalérica, y aciduria metilmalónica.

REFERENCIAS

Blacher J, Safar ME: Homocysteine, folic acid, B vitamins and cardiovascular risk. J Nutr Health Aging 2001;5:196.

Bliksrud YT, Brodtkorb E, Andresen PA, et al: Tyrosinemia type I, de novo mutation in liver tissue suppressing an inborn splicing defect. J Mol Med 2005;83:406.

Dobrowolski, Pey AL, Koch R, et al: Biochemical characterization of mutant phenylalanine hydroxylase enzymes and correlation with clinical presentation in hyperphenylalaninaemic patients. J Inherit Metab Dis 2009:32;10.

Flusser H, Korman SH, Sato K, et al: Mild glycine encephalopathy (NKH) in a large kindred due to a silent exonic GLDC splice mutation. Neurology 2005;64:1426.

Garg U, Dasouki M: Expanded newborn screening of inherited metabolic disorders by tandem mass spectrometry. Clinical and laboratory aspects. Clin Biochem 2006;39:315.

Gerstner B, Gratopp A, Marcinkowski M, et al: Glutaric acid and its metabolites cause apoptosis in immature oligodendrocytes: a novel mechanism of white matter degeneration in glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. Pediatr Res 2005;57;771.

Häussinger D, Schliess F: Glutamine metabolism and signaling in the liver. Front Biosci 2007;12:371.

Heldt K, Schwahn B, Marquardt I, et al: Diagnosis of maple syrup urine disease by newborn screening allows early intervention without extraneous detoxification. Mol Genet Metab 2005;84:313.

Moshal K, Camel CK, Kartha GK, et al: Cardiac dys-synchronization and arrhythmia in hyperhomocysteinemia. Curr Neurovasc Res 2007;4:289.

Muller E, Kolker S: Reduction of lysine intake while avoiding malnutrition: major goals and major problems in dietary treatment of glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. J Inherit Metab Dis 2004;27:903.

Sacksteder KA, Biery BJ, Morrell JC, et al: Identification of the alpha-aminoadipic semialdehyde synthase gene which is defective in familial hyperlysinemia. Am J Hum Genet 2000;66:1736.

Scriver CR, Sly WS, Childs B, et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Stenn FF, Milgram JW, Lee SL, et al: Biochemical identification of homogentisic acid pigment in an ochronotic Egyptian mummy. Science 1977;197:566.

Waters PJ, Scriver CR, Parniak MA: Homomeric and heteromeric interactions between wild-type and mutant phenylalanine hydroxylase subunits: evaluation of two-hybrid approaches for functional analysis of mutations causing hyperphenylalaninemia. Mol Genet Metab 2001;73:230.

C A P Í T U L O

30

Conversión de aminoácidos en productos especializados

Victor W. Rodwell, PhD

O B J E T I V O S

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir cómo los aminoácidos participan en diversos procesos biosintéticos que no son la síntesis de proteína.
- Esbozar el modo en que la arginina participa en la biosíntesis de creatina, óxido nítrico (NO), putrescina, espermina y espermidina.
- Indicar la contribución de la cisteína y de la β-alanina a la estructura de la coenzima A, y de la cisteína a la estructura del ácido taurocólico.
- Comentar el papel de la glicina en el catabolismo de fármacos.
- Documentar el papel de la glicina en la biosíntesis de hem, purinas, creatina y sarcosina.
- Identificar la reacción que convierte un aminoácido en el neurotransmisor histamina.
- Documentar la función de la *S*-adenosilmetionina como una fuente de grupos metilo en el metabolismo.
- Reconocer los metabolitos del triptófano, serotonina y melatonina, y la conversión del triptófano en triptamina y después en indol 3-acetato.
- Indicar la función de la tirosina en la formación de norepinefrina, epinefrina, triyodotironina y tiroxina.
- Ilustrar los papeles clave de la peptidil serina, treonina y tirosina en la regulación metabólica de las vías de transducción de señal.
- Esbozar los papeles de la glicina, arginina y *S*-adenosilmetionina en la biosíntesis de la creatina.
- Describir el papel del fosfato de creatina en la homeostasis de energía.
- Describir la formación del γ-aminobutirato (GABA) y los raros trastornos metabólicos asociados con defectos del catabolismo del GABA.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Ciertas proteínas contienen aminoácidos que han pasado por modificación postraduccional con el fin de permitirles realizar funciones específicas. Los ejemplos son la carboxilación del glutamato para formar γ-carboxiglutamato, que funciona en la unión de Ca^{2+}, la hidroxilación de prolina para la incorporación hacia la triple hélice de colágeno, y la hidroxilación de lisina hacia hidroxilisina, cuya modificación y entrecruzamiento subsiguientes estabilizan fibras de colágeno en maduración. Además de servir como los bloques de construcción para la síntesis de proteína, los aminoácidos sirven como precursores de materiales biológicos, como hem, purinas, pirimidinas, hormonas, neurotransmisores y péptidos que tienen actividad biológica. La histamina tiene una función fundamental en muchas reacciones alérgicas. Los neurotransmisores derivados de aminoácidos incluyen γ-aminobutirato, 5-hidroxitriptamina (serotonina), dopamina, norepinefrina y epinefrina. Muchos de los fármacos que se usan para tratar enfermedades neurológicas y psiquiátricas actúan al alterar el metabolismo de estos neurotransmisores. A continuación se comentan en el metabolismo y las funciones metabólicas de α-aminoácidos y no α-aminoácidos.

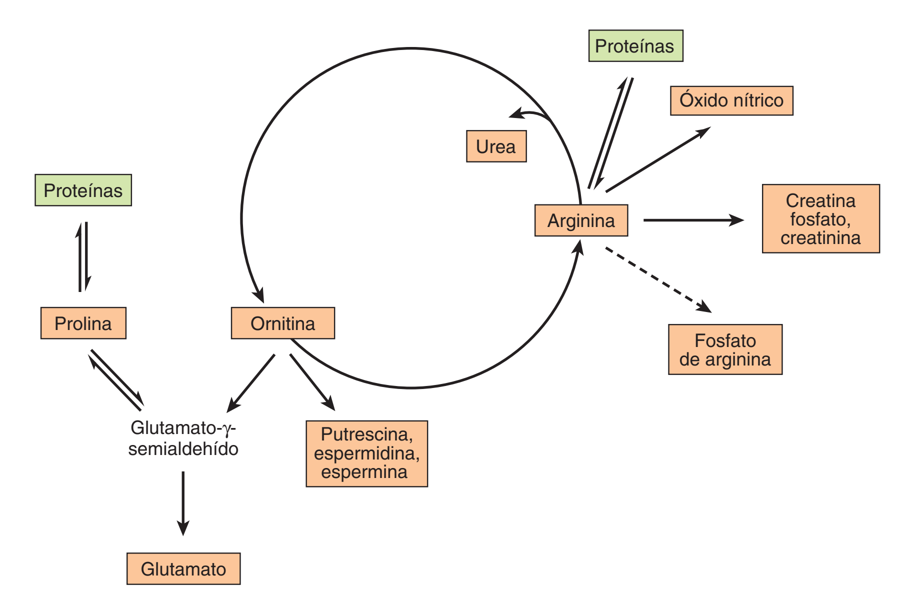


FIGURA 30–1 Metabolismo de la arginina, ornitina y prolina. Todas las reacciones con flechas continuas suceden en tejidos de mamífero. La putrescina y la espermina se sintetizan tanto en mamíferos como en bacterias. El fosfato de arginina del músculo de invertebrados funciona como un fosfágeno análogo a la creatina fosfato del músculo de mamíferos.

L-α-AMINOÁCIDOS

Alanina

Sirve como un acarreador de amoniaco y de los carbonos del piruvato desde el músculo estriado hacia el hígado por medio del ciclo de Cori (figura 20-4), y junto con la glicina constituye una fracción importante de los aminoácidos libres en el plasma.

Arginina

En la **figura 30-1** se resumen los destinos metabólicos de la arginina. Además de servir como un transportador de átomos de nitrógeno en la biosíntesis de la urea (véase figura 28-13), el grupo guanidino de la arginina es incorporado hacia creatina, y después de conversión en ornitina, su esqueleto de carbono se convierte en el de las poliaminas putrescina y espermina.

La reacción catalizada por la NO sintasa (**figura 30-2**), una oxidorreductasa de cinco electrones con múltiples cofactores, convierte un nitrógeno del grupo guanidina de la arginina en L-ornitina y NO, una molécula emisora de señales intracelulares que sirve como un neurotransmisor, relajante del músculo liso y vasodilatador (cap. 49).

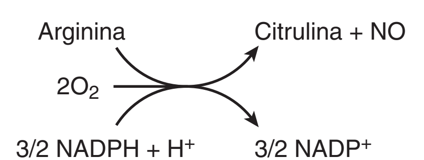


FIGURA 30–2 La reacción catalizada por la óxido nítrico sintasa.

Cisteína

Participa en la biosíntesis de la coenzima A (figura 44-18) al reaccionar con pantotenato para formar 4-fosfopantotenoil-cisteína (**figura 30-3**). Tres reacciones catalizadas por enzima convierten la cisteína en taurina, que puede desplazar la porción coenzima A de la colil-CoA para formar el ácido biliar ácido taurocólico (figura 26-7). La conversión de cisteína en taurina se inicia por su oxidación hacia cisteína sulfinato, catalizada por la enzima Fe^{2+} no hem cisteína dioxigenasa. La descarboxilación

4-Fosfopantotenato + Cisteína
CTP → CMP + PP_i
4-Fosfopantotenoil-cisteína

FIGURA 30–3 La reacción catalizada por la fosfopantotenato cisteína ligasa.

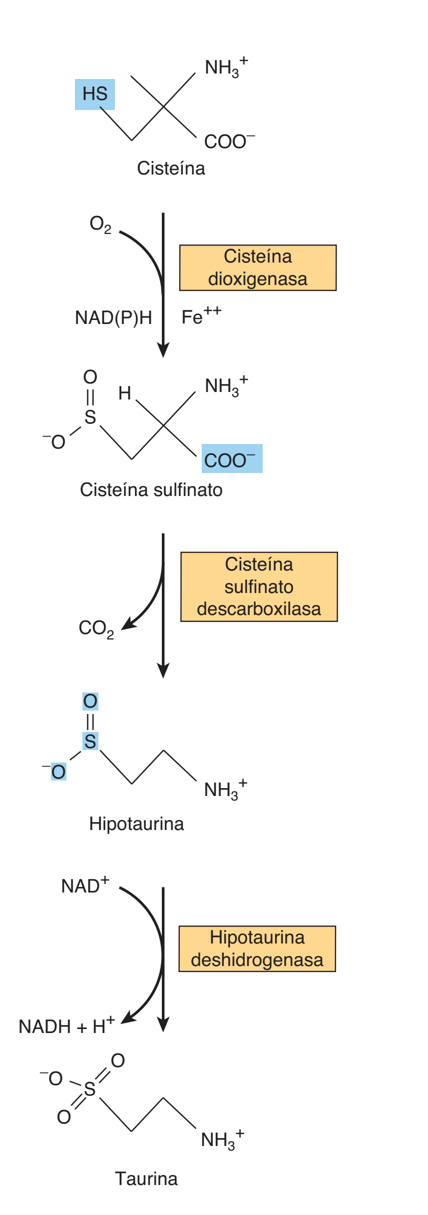


FIGURA 30–4 Conversión de cisteína en taurina. Las reacciones son catalizadas por la cisteína dioxigenasa, la cisteína sulfinato descarboxilasa, y la hipotaurina descarboxilasa, respectivamente.

de cisteína sulfinato por la cisteína sulfinato descarboxilasa forma hipotaurina, cuya oxidación por la hipotaurina deshidrogenasa forma taurina (**figura 30-4**).

Glicina

Los metabolitos y los productos farmacéuticos excretados como conjugados de glicina hidrosolubles comprenden el ácido glicocólico (cap. 26) y el ácido hipúrico formado a partir del aditivo de alimentos benzoato (**figura 30-5**). Muchos medicamentos, metabolitos de fármacos, y otros compuestos con grupos carboxilo se excretan en la orina como conjugados de glicina. Esta última se incorpora en la creatina, y el nitrógeno y el carbono α de la glicina se incorporan en los anillos pirrol y los carbonos de puente de metileno del hem (cap. 31), y toda la molécula de glicina se convierte en los átomos 4, 5 y 7 de purinas (figura 33-1).

Benzoato

ATP, CoASH → AMP + PP_i

Benzoil-CoA

Glicina → CoASH

Hipurato

FIGURA 30–5 Biosíntesis del hipurato. Ocurren reacciones análogas con muchos medicamentos y catabolitos acídicos.

Histidina

La descarboxilación de la histidina por la enzima histidina descarboxilasa, dependiente de piridoxal 5′-fosfato, forma histamina (**figura 30-6**). La histamina, una amina biogénica que funciona en las reacciones alérgicas y la secreción gástrica, está presente en todos los tejidos. Su concentración en el hipotálamo varía de acuerdo con un ritmo circadiano. Los compuestos histidina presentes en el organismo humano son ergotioneína, carnosina y la anserina de la dieta (**figura 30-7**). Aun cuando se desconocen sus funciones fisiológicas, la carnosina (β-alanil-histidina) y la homocarnosina (γ-aminobutiril-histidina) son constituyentes importantes de tejidos excitables, del cerebro y del músculo estriado. Las cifras urinarias de 3-metilhistidina son extraordinariamente bajas en pacientes con **enfermedad de Wilson**.

Metionina

El principal destino no proteínico de la metionina es la conversión en *S*-adenosilmetionina, la fuente primordial de grupos

Histidina $\xrightarrow{CO_2}$ **Histamina**

FIGURA 30–6 La reacción catalizada por la histidina descarboxilasa.

Ergotioneína

Carnosina

Anserina

Homocarnosina

FIGURA 30–7 Derivados de la histidina. Los recuadros en color rodean a los componentes no derivados de la histidina. El grupo SH de la ergotioneína se deriva de la cisteína.

Metionina + Mg-ATP + H_2O

Mg-PP_i + P_i

Adenina

***S*-Adenosilmetionina**

FIGURA 30–8 Biosíntesis de la *S*-adenosilmetionina, catalizada por la metionina adenosiltransferasa.

metilo en el cuerpo. La *S*-adenosilmetionina es sintetizada a partir de metionina y ATP, una reacción catalizada por la metionina adenosiltransferasa (MAT) (**figura 30-8**). Los tejidos humanos contienen tres isozimas de MAT (MAT-1 y MAT-3 del hígado, y MAT-2 de tejidos no hepáticos). Aun cuando la **hipermetioninemia** puede producirse por una disminución grave de la actividad de la MAT-1 y MAT-3 hepáticas, si hay actividad residual de MAT-1 o MAT-3, y la actividad de la MAT-2 es normal, una concentración hística alta de metionina asegurará síntesis de cantidades adecuadas de *S*-adenosilmetionina.

Luego de la descarboxilación de *S*-adenosilmetionina por la metionina descarboxilasa, tres carbonos y el grupo α-amino de la metionina contribuyen a la biosíntesis de las poliaminas espermina y espermidina (**figura 30-9**). Estas poliaminas funcionan en la proliferación y el crecimiento celulares, son factores de crecimiento para células de mamífero en cultivo, y estabilizan células intactas, organelos subcelulares y membranas. Las dosis farmacológicas de poliaminas originan hipotermia e hipotensión. Dado que portan múltiples cargas positivas, las poliaminas se asocian fácilmente con el DNA y RNA. En la figura 30-9 se resume la biosíntesis de poliaminas a partir de metionina y ornitina, y en la **figura 30-10**, el catabolismo de las poliaminas.

Serina

La serina participa en la biosíntesis de la esfingosina (cap. 24), y de las purinas y pirimidinas, donde proporciona los carbonos 2 y 8 de las purinas y el grupo metilo de la timina (cap. 33). Los defectos genéticos de la cistationina β-sintasa, una proteína hem que cataliza la condensación, dependiente de 5′-fosfato de piridoxal, de serina con homocisteína para formar cistationina, da lugar a **homocistinuria**.

$$\text{Serina} + \text{homocisteína} \rightarrow \text{cistationina} + H_2O$$

Triptófano

Después de la hidroxilación del triptófano hacia 5-hidroxitriptófano por la tirosina hidroxilasa hepática, la descarboxilación subsiguiente forma serotonina (5-hidroxitriptamina), un potente vasoconstrictor y estimulador de la contracción del músculo liso. El catabolismo de la serotonina inicia por la desaminación oxidativa hacia 5-hidroxiindol-3-acetato catalizada por la monoaminooxidasa (MAO) (**figura 30-11**). La estimulación psíquica que se observa tras la administración de iproniazida se produce por su capacidad para prolongar la acción de la serotonina al inhibir a la MAO. En el carcinoide (argentafinoma), las células tumorales producen cantidades excesivas de serotonina. Los metabolitos urinarios de esta última en sujetos con carcinoide incluyen *N*-acetilserotonina glucurónido y el conjugado glicina del 5-hidroxiindolacetato. La serotonina y la 5-metoxitriptamina se metabolizan hacia los ácidos correspondientes por medio de la MAO. La *N*-acetilación de la serotonina, seguida por su *O*-metilación en el cuerpo pineal, forma melatonina. La melatonina circulante es captada por todos los tejidos, incluso el cerebro, pero se metaboliza con rapidez por medio de hidroxilación seguida por conjugación con sulfato o con ácido glucurónico. Los tejidos renal y hepático, así como las bacterias fecales, convierten el triptófano en triptamina y luego en indol 3-acetato. Los principales catabolitos urinarios normales del triptófano son el 5-hidroxiindolacetato y el indol 3-acetato.

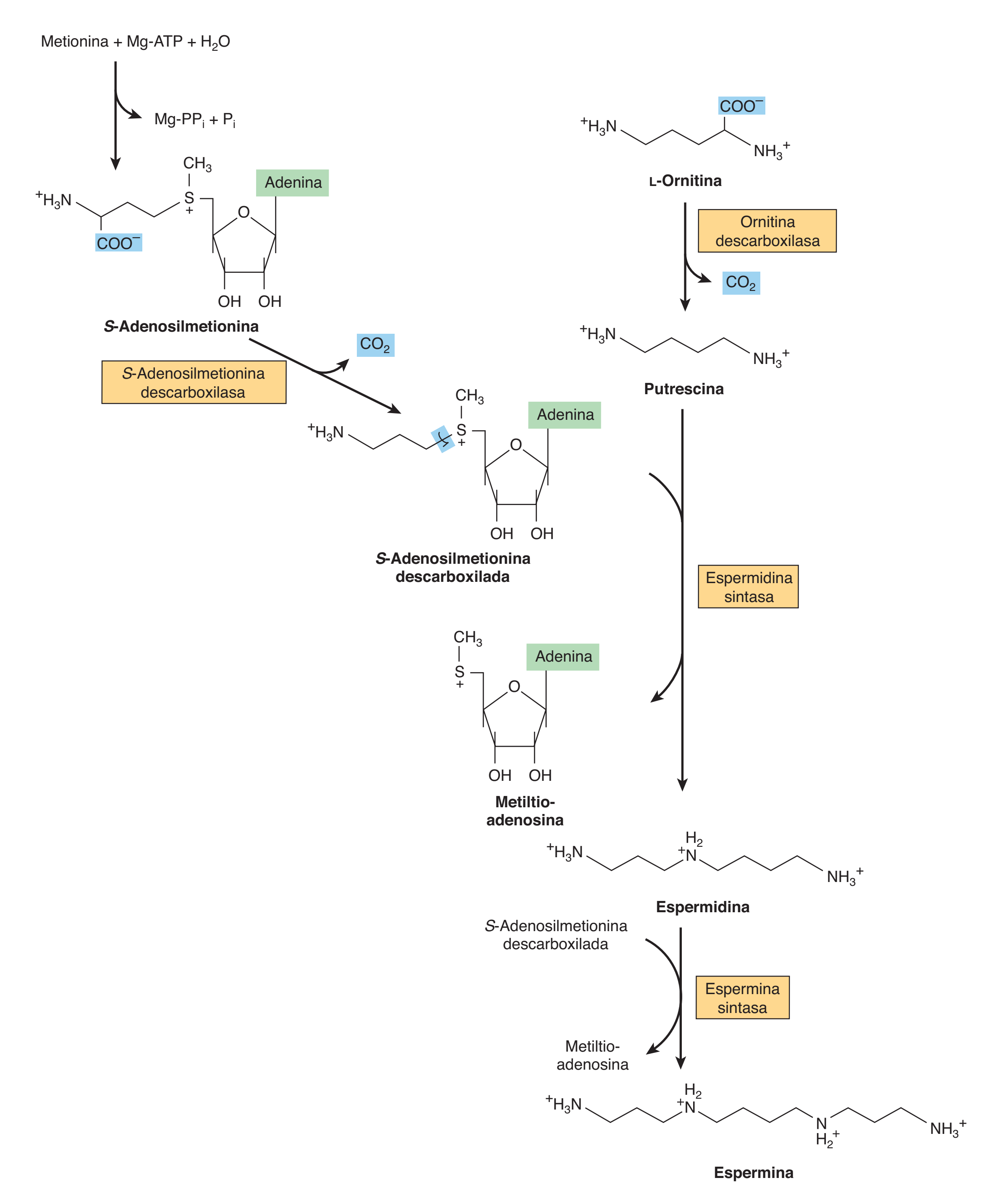


FIGURA 30–9 **Intermediarios y enzimas que participan en la biosíntesis de la espermidina y la espermina.**

Tirosina

Las células neurales convierten la tirosina en epinefrina y norepinefrina (**figura 30-12**). Aunque la dopa también es un intermediario en la formación de melanina, diferentes enzimas hidroxilan a la tirosina en melanocitos. La dopa descarboxilasa, una enzima dependiente de fosfato de piridoxal, forma dopamina. La hidroxilación subsiguiente por la dopamina β-oxidasa a continuación forma norepinefrina. En la médula suprarrenal, la feniletanolamina-*N*-metiltransferasa utiliza *S*-adenosilmetionina para metilar la amina primaria de la norepinefrina, lo que forma epinefrina (figura 30-12). La tirosina también es un precursor de la triyodotironina y la tiroxina (véase cap. 41).

Fosfoserina, fosfotreonina y fosfotirosina

La fosforilación y desfosforilación de residuos serilo, treonilo o tirosilo específicos de proteínas regulan la actividad de ciertas enzimas del metabolismo de los lípidos y los carbohidratos

$^{+}H_3N$ H_2^{+} N N H_2^{+} NH_3^{+}

Espermina

O_2

Poliamina oxidasa

H_2O_2

O

NH_3^{+}

β-Aminopropionaldehído

$^{+}H_3N$ H_2^{+} N NH_3^{+}

Espermidina

O_2

Poliamina oxidasa

H_2O_2

β-Aminopropionaldehído

$^{+}H_3N$ NH_3^{+}

Putrescina

$NH_4^{+} + CO_2$

FIGURA 30–10 Catabolismo de poliaminas.

(caps. 9 y 19 a 26) y de proteínas que participan en cascadas de transducción de señal (cap. 42).

Sarcosina (*N*-metilglicina)

La biosíntesis y el catabolismo de la sarcosina (*N*-metilglicina) ocurren en las mitocondrias. La formación de sarcosina a partir de dimetilglicina es catalizada por la flavoproteína dimetilglicina deshidrogenasa, que requiere pteroilpentaglutamato (TPG) reducido.

$$\text{Dimetilglicina} + FADH_2 + H_4TPG + H_2O$$
$$\rightarrow \text{sarcosina} + N\text{-formil-TPG}$$

Cantidades traza de sarcosina también pueden surgir por metilación de glicina, una reacción catalizada por la *S*-adenosilmetionina: glicina metiltransferasa.

$$\text{Glicina} + S\text{-adenosilmetionina} \rightarrow \text{sarcosina}$$
$$+ S\text{-adenosilhomocisteína}$$

El catabolismo de la sarcosina hacia glicina, catalizado por la flavoproteína sarcosina deshidrogenasa, también necesita TPG reducido:

$$\text{Sarcosina} + FAD + H_4TPG + H_2O$$
$$\rightarrow \text{glicina} + FADH_2 + N\text{-formil-TPG}$$

Las reacciones de desmetilación que forman y degradan sarcosina representan importantes fuentes de unidades de un carbono. El $FADH_2$ se reoxida mediante la cadena de transporte de electrones (cap. 13).

Creatina y creatinina

La creatinina se forma en el músculo a partir del fosfato de creatina por medio de deshidratación no enzimática irreversible, y pérdida de fosfato (**figura 30-13**); puesto que la excreción de creatinina en orina de 24 h es proporcional a la masa muscular, proporciona una medida de si se ha reunido un espécimen completo de orina de 24 h. La glicina, arginina y metionina participan en la biosíntesis de creatina. La síntesis de creatina se completa mediante metilación del guanidoacetato por la *S*-adenosilmetionina (figura 30-13).

AMINOÁCIDOS NO α

Los presentes en los tejidos en una forma libre son β-alanina, β-aminoisobutirato y γ-aminobutirato (GABA). La β-alanina también está presente en forma combinada en la coenzima A (figura 44-18) y en los β-alanil dipéptidos carnosina, anserina y homocarnosina (véase más adelante).

β-Alanina y β-aminoisobutirato

Se forman durante el catabolismo de las pirimidinas uracilo y timidina, respectivamente (figura 33-9). Asimismo, la hidrólisis de β-alanil dipéptidos por la enzima carnosinasa produce cantidades traza de β-alanina. El β-aminoisobutirato también surge por transaminación de metilmalonato semialdehído, un catabolito de la L-valina (figura 29-24).

La reacción inicial del catabolismo de la β-alanina es la transaminación hacia malonato semialdehído. La transferencia subsiguiente de coenzima A desde la succinil-CoA forma malonil-CoA semialdehído, que después se oxida hacia malonil-CoA y se descarboxila hacia el intermediario anfibólico acetil-CoA. Reacciones análogas caracterizan el catabolismo del β-aminoisobutirato. La transaminación forma metilmalonato semialdehído, que es convertido en el intermediario anfibólico succinil-CoA por las reacciones 8V y 9V de la figura 29-24. Los trastornos del metabolismo de la β-alanina y del β-aminoisobutirato surgen por defectos de las enzimas de la vía catabólica de pirimidina; entre ellos destacan los trastornos que se producen por una deficiencia total o parcial de dihidropirimidina deshidrogenasa (figura 33-9).

β-Alanil dipéptidos

Los β-alanil dipéptidos carnosina y anserina (*N*-metilcarnosina) (figura 30-7) activan a la miosina ATPasa, producen quelación del cobre y aumentan la captación de este último. El β-alanilimidazol amortigua el pH de músculo estriado que se está contrayendo, de modo anaeróbico. La biosíntesis de carnosina es

FIGURA 30–11 **Biosíntesis y metabolismo de la serotonina y la melatonina.** ($[NH_4^+]$, mediante transaminación; MAO, monoaminooxidasa; $\sim CH_3$, proveniente de *S*-adenosilmetionina.)

catalizada por la carnosina sintetasa en una reacción de dos etapas que comprende la formación inicial de un acil-adenilato de β-alanina unido a enzima, y la transferencia subsiguiente de la porción β-alanilo hacia L-histidina.

$$\text{ATP} + \beta\text{-alanina} \rightarrow \beta\text{-alanil-AMP} + \text{PP}_i$$

$$\beta\text{-Alanil-AMP} + \text{L-histidina} \rightarrow \text{carnosina} + \text{AMP}$$

La carnosinasa cataliza la hidrólisis de la carnosina hacia β-alanina y L-histidina. El trastorno hereditario deficiencia de carnosinasa se caracteriza por **carnosinuria**.

La carnosina sintetasa sintetiza en el tejido cerebral la homocarnosina (figura 30-7), presente en el cerebro de seres humanos a cifras más altas que la carnosina. La carnosinasa sérica no hidroliza a la homocarnosina. La **homocarnosinosis**, un

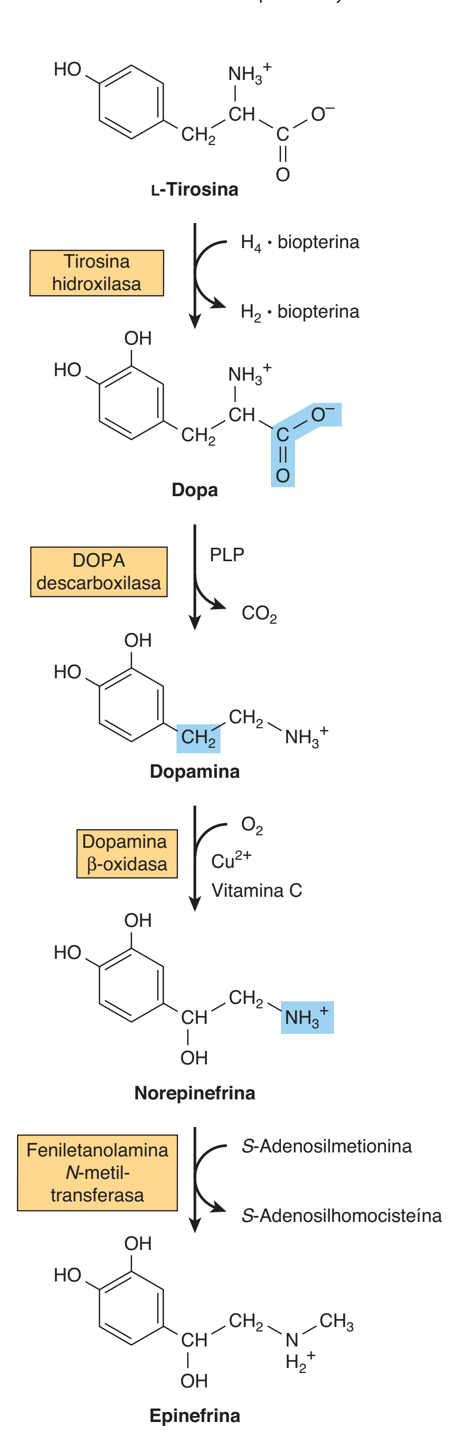


FIGURA 30–12 Conversión de tirosina en epinefrina y norepinefrina en células neuronales y suprarrenales. (PLP, fosfato de piridoxal.)

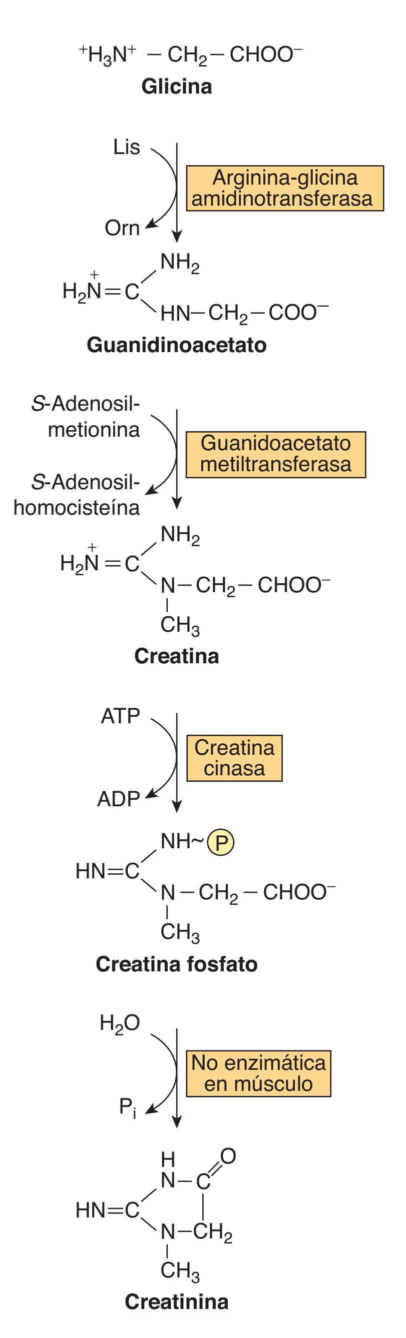


FIGURA 30–13 Biosíntesis de la creatina y creatinina. La conversión de glicina y el grupo guanidina de la arginina en creatina y creatina fosfato. También se muestra la hidrólisis no enzimática de creatina fosfato hacia creatinina.

raro trastorno genético, se relaciona con paraplejía espástica y retraso mental progresivos.

γ-Aminobutirato (GABA)

Funciona en el tejido cerebral como un neurotransmisor inhibidor al alterar diferencias de potencial transmembrana. El GABA se forma por descarboxilación de glutamato por la L-glutamato descarboxilasa (**figura 30-14**). La transaminación del γ-aminobutirato forma succinato semialdehído, que se puede reducir hacia γ-hidroxibutirato por medio de la L-lactato deshidrogenasa, u oxidar hacia succinato y desde allí, mediante el ciclo del ácido cítrico, hacia CO_2 y H_2O (figura 30-14). Un raro trastorno genético del metabolismo del GABA incluye una GABA aminotransferasa defectuosa, una enzima que participa en el catabolismo del GABA luego de su liberación postsináptica en el tejido cerebral. Los defectos de la succínico semialdehído deshidrogenasa (figura 30-14) producen otro raro trastorno metabólico del catabolismo del γ-aminobutirato caracterizado por **aciduria 4-hidroxibutírica**.

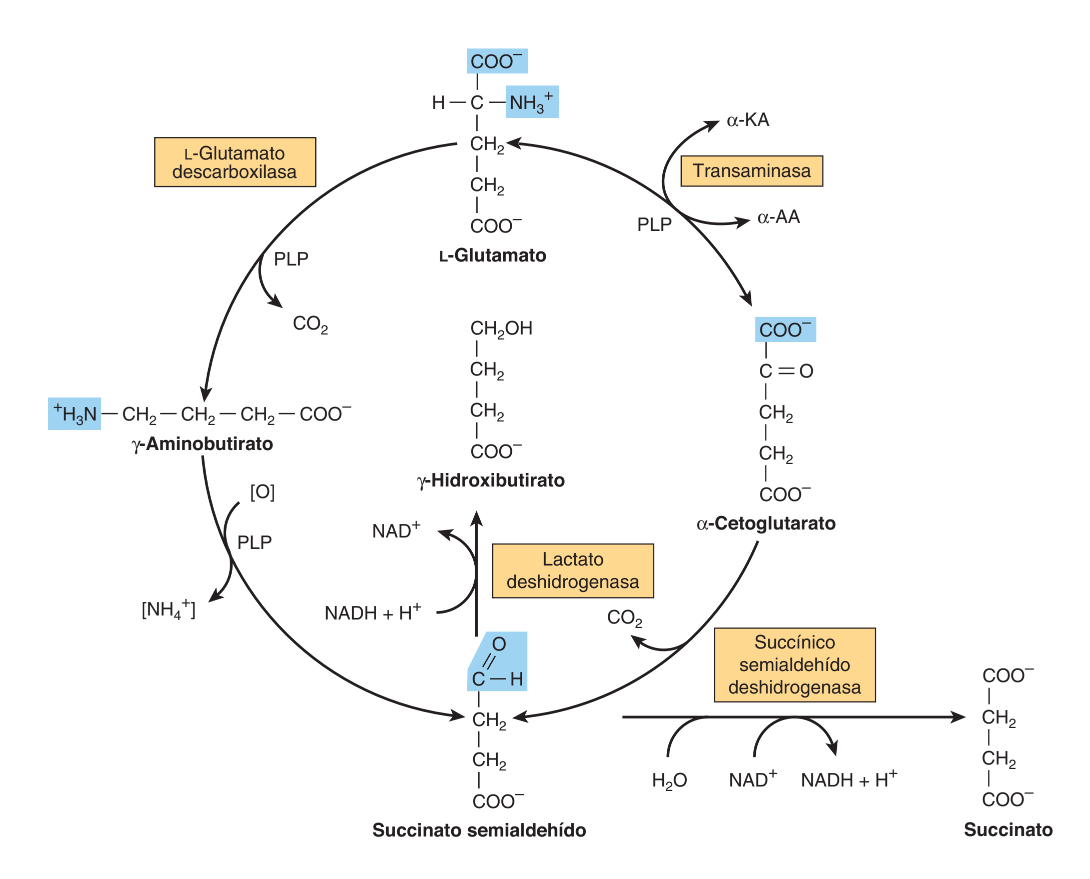


FIGURA 30–14 Metabolismo del γ-aminobutirato. (α-KA, α-cetoácidos; α-AA, α-aminoácidos; PLP, fosfato de piridoxal.)

RESUMEN

- Además de desempeñar funciones estructurales y funcionales en las proteínas, los α-aminoácidos participan en una amplia variedad de otros procesos biosintéticos.
- La arginina proporciona el grupo formamidina de la creatina y el nitrógeno del NO. Por medio de la ornitina, la arginina proporciona el esqueleto de las poliaminas putrescina, espermina y espermidina.
- La cisteína proporciona la porción tioetanolamina de la coenzima A, y después de su conversión en taurina, parte del ácido biliar ácido taurocólico.
- La glicina participa en la biosíntesis de hem, purinas, creatina y *N*-metilglicina (sarcosina). Muchos medicamentos y metabolitos de fármacos se excretan como conjugados de glicina, lo que incrementa la hidrosolubilidad para excreción urinaria.
- La descarboxilación de la histidina forma el neurotransmisor histamina. Los compuestos histidina presentes en el organismo humano comprenden ergotioneína, carnosina y anserina de la dieta.
- La *S*-adenosilmetionina, la principal fuente de grupos metilo en el metabolismo, contribuye con su esqueleto de carbono a la biosíntesis de las poliaminas espermina y espermidina.
- Además de sus funciones en la biosíntesis de fosfolípido y esfingosina, la serina proporciona los carbonos 2 y 8 de las purinas, y el grupo metilo de la timina.
- Los metabolitos clave del triptófano incluyen serotonina y melatonina. Los tejidos renal y hepático, y las bacterias fecales, convierten el triptófano en triptamina y, de allí, en indol 3-acetato. Los principales catabolitos del triptófano en la orina son el indol 3-acetato y el 5-hidroxiindolacetato.
- La tirosina forma norepinefrina y epinefrina, y luego de yodación las hormonas tiroideas triyodotironina y tiroxina.
- La interconversión catalizada por enzima, de las formas fosfo y desfosfo de serina, treonina y tirosina unidas a péptido desempeña funciones clave en la regulación metabólica, incluso transducción de señal.
- La glicina, arginina y *S*-adenosilmetionina participan en la biosíntesis de creatina, que como fosfato de creatina sirve como una importante reserva de energía en los tejidos muscular y cerebral. La excreción en la orina de su catabolito creatina es proporcional a la masa muscular.
- La β-alanina y el β-aminoisobutirato están presentes en los tejidos como aminoácidos libres. La β-alanina también se encuentra en forma unida en la coenzima A, carnosina, anserina y homocarnosina. El catabolismo de β-alanina comprende conversión por pasos en acetil-CoA. Reacciones análogas catabolizan el β-aminoisobutirato hacia succinil-CoA. Los trastornos del metabolismo de la β-alanina y del β-aminoisobutirato surgen por defectos de las enzimas del catabolismo de pirimidina.
- La descarboxilación de glutamato forma el neurotransmisor inhibidor GABA; dos raros trastornos metabólicos muestran vínculo con defectos del catabolismo del GABA.

REFERENCIAS

Conti M, Beavo J: Biochemistry and physiology of cyclic nucleotide phosphodiesterases: essential components in cyclic nucleotide signaling. Annu Rev Biochem 2007;
76:481.

Dominy JE Jr, Hwang J, Guo S, et al: Synthesis of cysteine dioxygenase's amino acid cofactor is regulated by substrate and represents a novel post-translational regulation of activity. J Biol Chem 2008;283:12188.

Joseph CA, Maroney MJ: Cysteine dioxygenase: structure and mechanism. Chem Commun (Camb) 2007;28:3338.

Lindemose S, Nielsen PE, Mollegaard NE: Polyamines preferentially interact with bent adenine tracts in double-stranded DNA. Nucleic Acids Res 2005;33:1790.

Manegold C, Hoffmann GF, Degen I, et al: Aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency: clinical features, drug therapy and followup. J Inherit Metab Dis 2009;32:371.

Moinard C, Cynober L, de Bandt JP: Polyamines: metabolism and implications in human diseases. Clin Nutr 2005;24:184.

Pearl PL, Gibson KM, Cortez MA, et al: Succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency: Lessons from mice and men. J Inherit Metab Dis 2009;32:343.

Pearl PL, Taylor JL, Trzcinski S, et al: The pediatric neurotransmitter disorders. J Child Neurol 2007;22:606.

Scriver CR, Sly WS, Childs B, et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Wu F, Yu J, Gehring H. Inhibitory and structural studies of novel coenzyme-substrate analogs of human histidine decarboxylase. FASEB J. 2008;3:890.

CAPÍTULO

31

Porfirinas y pigmentos biliares

Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Conocer la relación entre porfirinas y hem.
- Estar familiarizado con la manera en que se sintetiza el hem.
- Entender las causas y los cuadros clínicos generales de las diversas porfirias.
- Saber cómo se deriva la bilirrubina a partir del hem, y cómo se maneja en el organismo.
- Entender la naturaleza de la ictericia, y apreciar cómo abordar la determinación de su causa en un paciente.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

En este capítulo se presentan las propiedades bioquímicas de las porfirinas y de los pigmentos biliares. Estos temas se encuentran estrechamente relacionados, porque el hem se sintetiza a partir de porfirinas y hierro, y los productos de degradación del hem son los pigmentos biliares y el hierro.

El conocimiento de las propiedades bioquímicas de las porfirinas y del hem es básico para entender las diversas funciones de las **hemoproteínas** (véase más adelante) en el organismo. Las **porfirias** son un grupo de enfermedades causadas por anormalidades de la vía de biosíntesis de las diversas porfirinas. Aun cuando las porfirias no son muy prevalecientes, es necesario que los médicos estén informados acerca de ellas. Un estado clínico mucho más prevaleciente es la **ictericia**, que se debe a aumento de la bilirrubina en el plasma; este incremento se debe a producción excesiva de bilirrubina o a falla de su excreción y se observa en muchas enfermedades que varían desde anemias hemolíticas, pasando por hepatitis viral, hasta cáncer de páncreas.

LAS METALOPORFIRINAS Y HEMOPROTEÍNAS SON IMPORTANTES EN LA NATURALEZA

Las **porfirinas** son los compuestos cíclicos que se forman por el enlace de cuatro anillos pirrol mediante puentes de metino (=HC—) (**figura 31-1**). Una propiedad típica de las porfirinas es la formación de complejos con iones metálicos unidos al átomo de nitrógeno de los anillos de pirrol. Los ejemplos son **porfirinas de hierro** como el **hem** de la hemoglobina, y la porfirina que **contiene magnesio**, **clorofila**, el pigmento fotosintético de los vegetales.

Las proteínas que contienen hem (**hemoproteínas**) están ampliamente distribuidas en la Naturaleza. El **cuadro 31-1** lista ejemplos de su importancia en seres humanos y en animales.

Las porfirinas naturales tienen cadenas laterales sustituyentes en el núcleo de porfirina

Las **porfirinas** que se encuentran en la Naturaleza son compuestos en los cuales los ocho átomos de hidrógeno numerados en el núcleo de porfirina se sustituyen por diversas **cadenas laterales** (figura 31-1). Como un medio simple de mostrar estas sustituciones, Fischer propuso una fórmula abreviada en la cual los puentes de metileno se omiten y cada anillo pirrol se muestra como en la **figura 31-2**, con las ocho posiciones sustituyentes numeradas como se indica. En las **figuras 31-2, 31-3** y **31-4** se representan diversas porfirinas.

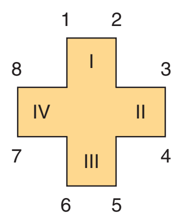
La disposición de los sustituyentes acetato (A) y propionato (P) en la uroporfirina que se muestran en la figura 31-2 es asimétrica (en el anillo IV, el orden esperado de los sustituyentes A y P está invertido). Una porfirina con este tipo de **sustitución asimétrica** se clasifica como porfirina **tipo III**. Una porfirina con una disposición de los sustituyentes por completo simétrica se clasifica como porfirina **tipo I**. Sólo los tipos I y III se encuentran en la Naturaleza, y la serie tipo III es mucho más abundante (figura 31-3) y de mayor importancia porque incluye el hem.

El **hem** y su precursor inmediato, la **protoporfirina IX** (figura 31-4), son porfirinas **tipo III** (es decir, los grupos metilo están distribuidos de modo asimétrico, como en la coproporfirina tipo III). Sin embargo, a veces se identifican como pertenecientes a la serie IX, porque se designaron novenos en una serie de isómeros postulados por Hans Fischer, el investigador pionero en el campo de la química de la porfirina.

Pirrol

Porfirina
($C_{20}H_{14}N_4$)

FIGURA 31–1 La molécula de porfirina. Los anillos están marcados como I, II, III y IV. Las posiciones sustituyentes en los anillos están marcadas como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8. Los puentes de metino (═HC—) están marcados como α, β, γ y δ. El sistema de numeración usado es el de Hans Fischer.



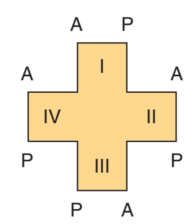


FIGURA 31–2 Uroporfirina III. (A [acetato] = —CH_2COOH; P [propionato] = —CH_2CH_2COOH.) Note la asimetría de los sustituyentes en el anillo IV (véase el texto).

EL HEM SE SINTETIZA A PARTIR DE SUCCINIL-CoA Y GLICINA

El **hem** se sintetiza en células vivas por medio de una vía que se ha estudiado mucho. Los dos materiales iniciales son la **succinil-CoA**, derivada del ciclo del ácido cítrico en las mitocondrias, y el aminoácido **glicina**. En esta reacción también se requiere **fosfato de piridoxal** para "activar" a la glicina. El producto de la reacción de condensación entre la succinil-CoA y la glicina es el **ácido α-amino-β-cetoadípico**, que se descarboxila con rapidez para formar **δ-aminolevulinato** (ALA) (**figura 31-5**). Esta secuencia de reacción es catalizada por la **ALA sintasa**, la enzima controladora en la biosíntesis de porfirina en el hígado de mamíferos. El ALA se sintetiza en las **mitocondrias**. En el citosol, la enzima **ALA deshidratasa** condensa dos moléculas de ALA para formar dos moléculas de agua y una de **porfobilinógeno** (PBG) (figura 31-5).

La ALA deshidratasa es una enzima que contiene zinc, y es sensible a la inhibición por **plomo**, como ocurre en la intoxicación por este último.

Un **tetrapirrol cíclico** —esto es, una porfirina— se forma por condensación de cuatro moléculas de PBG (**figura 31-6**). Estas cuatro moléculas se condensan de una manera de cabeza a cola para formar un tetrapirrol lineal, el **hidroximetilbilano** (HMB).

La **uroporfirinógeno I sintasa**, también denominada PBG desaminasa o HMB sintasa, cataliza la reacción. El HMB se cicliza de manera espontánea para formar **uroporfirinógeno I** (lado izquierdo de la figura 31-6), o la acción de la uroporfirinógeno III sintasa lo convierte en **uroporfirinógeno III** (lado derecho de la figura 31-6). En circunstancias normales, el uroporfirinógeno formado es de manera casi exclusiva el isómero III, pero en ciertas porfirias (véase más adelante), hay formación excesiva de los isómeros tipo I de porfirinógenos.

Note que estos dos uroporfirinógenos tienen los anillos pirrol conectados por **puentes de metileno** (—CH_2—), que no forman un sistema de anillos conjugado. Así, estos compuestos son **incoloros** (como lo son todos los porfirinógenos). Empero, los porfirinógenos se autooxidan con facilidad hacia sus porfirinas coloreadas respectivas. Estas oxidaciones son catalizadas por la luz y por las porfirinas que se forman.

El uroporfirinógeno III se convierte en **coproporfirinógeno III** por descarboxilación de todos los grupos acetato (A), que los cambia a sustituyentes metilo (M). La reacción es catalizada por la **uroporfirinógeno descarboxilasa**, que también tiene la capacidad de convertir el uroporfirinógeno I en coproporfirinógeno I (**figura 31-7**). El coproporfirinógeno III a continuación entra en las mitocondrias, donde es convertido en **protoporfirinógeno III** y después en **protoporfirina III**. Esta conversión comprende varios pasos. La enzima mitocondrial **coproporfirinógeno oxidasa** cataliza la descarboxilación y oxidación de dos cadenas laterales propiónicas para formar protoporfirinógeno. Esta enzima sólo tiene capacidad para actuar sobre el coproporfirinógeno III, lo cual explicaría por qué las protoporfirinas tipo I por lo general no se encuentran en la naturaleza. La oxidación del protoporfirinógeno hacia **protoporfirina** es catalizada por otra enzima mitocondrial, la **protoporfirinógeno oxidasa**. En el hígado de mamíferos, la conversión de coproporfirinógeno en protoporfirina necesita oxígeno molecular.

CUADRO 31–1 Ejemplos de algunas hemoproteínas importantes de seres humanos y animales[1]

Proteína	Función
Hemoglobina	Transporte de oxígeno en la sangre
Mioglobina	Almacenamiento de oxígeno en el músculo
Citocromo *c*	Participación en la cadena de transporte de electrones
Citocromo P450	Hidroxilación de xenobióticos
Catalasa	Degradación de peróxido de hidrógeno
Triptófano pirrolasa	Oxidación de triptófano

[1]Las funciones de las proteínas anteriores se describen en varios capítulos de este libro.

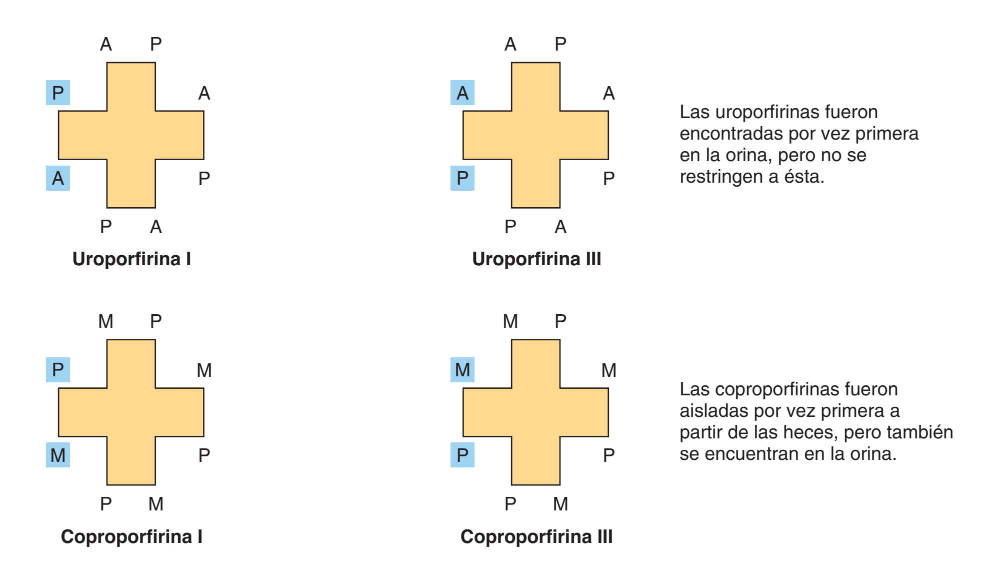


FIGURA 31–3 Uroporfirinas y coproporfirinas. (A, acetato; P, propionato; M, metilo.)

La formación de hem incluye la incorporación de hierro hacia protoporfirina

El paso final en la síntesis del hem comprende la incorporación de hierro ferroso hacia protoporfirina en una reacción catalizada por la **ferroquelatasa (hem sintasa)**, otra enzima mitocondrial (figura 31-4).

En la **figura 31-8** se resumen los pasos en la biosíntesis de los derivados de porfirina a partir de PBG. Las últimas tres enzimas en la vía y la ALA sintasa están localizadas en la **mitocondria**, mientras que las otras enzimas son **citosólicas**. Se encuentran formas de ALA sintasa tanto **eritroides** como **no eritroides** (de "administración de la casa"). El hem se biosintetiza en casi todas las células de mamífero, con la excepción de los eritrocitos maduros, que carecen de mitocondrias. Con todo, alrededor de 85% del hem se sintetiza en células precursoras eritroides en la **médula ósea** y la mayor parte del resto en **hepatocitos**.

Los **porfirinógenos** antes descritos son **incoloros**; contienen seis átomos de hidrógeno adicionales en comparación con las porfirinas coloreadas correspondientes. Estas **porfirinas reducidas** (los porfirinógenos) y no las porfirinas correspondientes son los intermediarios reales en la biosíntesis de la protoporfirina y del hem.

La ALA sintasa es la enzima reguladora clave en la biosíntesis hepática de hem

La **ALA sintasa** se encuentra en formas tanto **hepática** (ALAS1) como **eritroide** (ALAS2). La reacción limitante en la síntesis del hem en el hígado es la catalizada por ALAS1 (figura 31-5), una enzima reguladora. Parece ser que el **hem**, quizá al actuar mediante una molécula aporrepresora, actúa como un **regulador negativo** de la síntesis de ALAS1. Este mecanismo de represión-desrepresión se describe en la **figura 31-9**. De este modo, el índice de síntesis de ALAS1 aumenta considerablemente en ausencia de hem, y está disminuido en su presencia. En circunstancias normales, el índice de recambio de ALAS1 en hígado de rata es rápido (vida media de aproximadamente 1 h), característica común de una enzima que cataliza una reacción limitante. El hem también afecta la traducción de la enzima y su transferencia desde el citosol hacia la mitocondria.

Muchos **fármacos**, cuando son administrados a seres humanos, pueden dar por resultado un incremento notorio de ALAS1. Casi todos estos medicamentos se metabolizan por me-

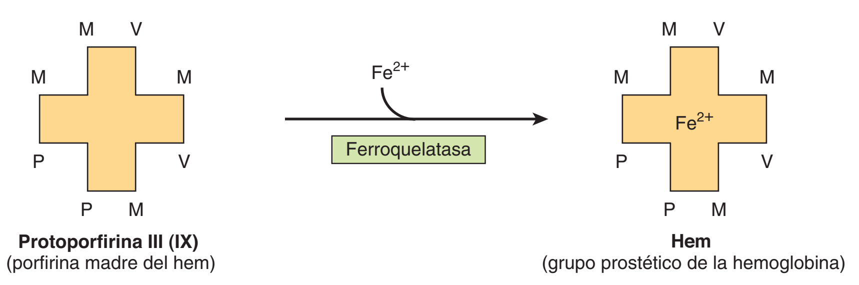


FIGURA 31–4 Adición de hierro ferroso a la protoporfirina para formar hem. (V [vinilo] = —CH═CH_2.)

Succinil-CoA (succinato "activo")

Glicina

ALA sintasa

CoA • SH

Fosfato de piridoxal

α-Amino-β-cetoadipato

ALA sintasa

CO_2

δ-Aminolevulinato (ALA)

$2H_2O$

ALA deshidratasa

Dos moléculas de δ-aminolevulinato

Porfobilinógeno (primer precursor pirrol)

FIGURA 31–5 Biosíntesis del porfobilinógeno. La ALA sintasa está presente en las mitocondrias, mientras que la ALA deshidratasa lo está en el citosol.

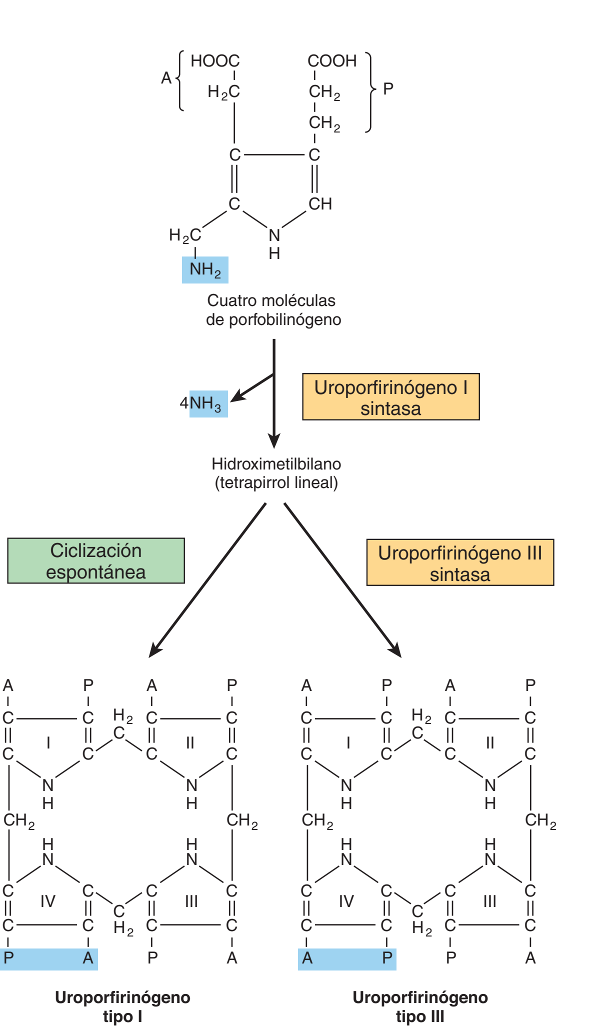


FIGURA 31–6 Conversión de porfobilinógeno en uroporfirinógenos. La uroporfirinógeno sintasa I también se llama porfobilinógeno (PBG) desaminasa o hidroximetilbilano (HMB) sintasa.

dio de un sistema en el hígado que utiliza una hemoproteína específica, el **citocromo P450** (cap. 53). Durante su metabolismo, la utilización de hem por el citocromo P450 está muy aumentada, lo que a su vez disminuye la concentración intracelular de hem. Este último evento origina una desrepresión de ALAS1, con un índice incrementado correspondiente de síntesis de hem para satisfacer las necesidades de las células.

Varios factores influyen sobre la desrepresión de ALAS1 mediada por fármacos en el hígado; por ejemplo, la administración de **glucosa** puede evitarla, al igual que la administración de **hematina** (una forma oxidada de hem).

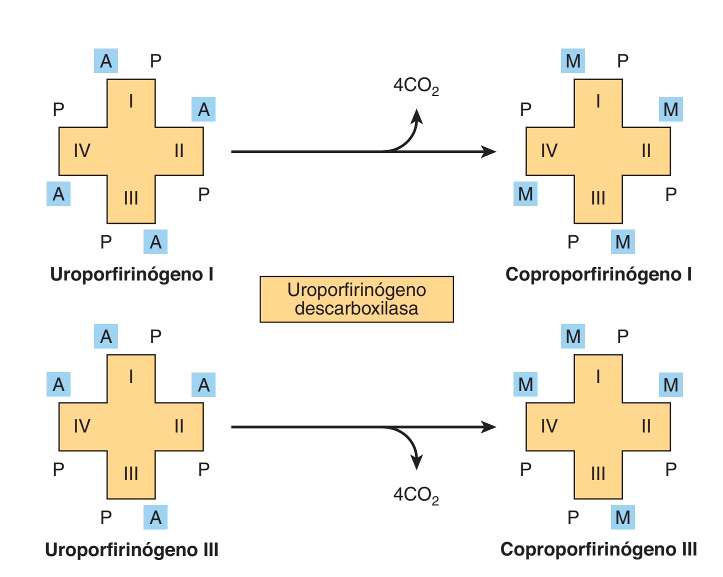


FIGURA 31–7 Descarboxilación de uroporfirinógenos hacia coproporfirinógenos en el citosol. (A, acetilo; M, metilo; P, propionilo.)

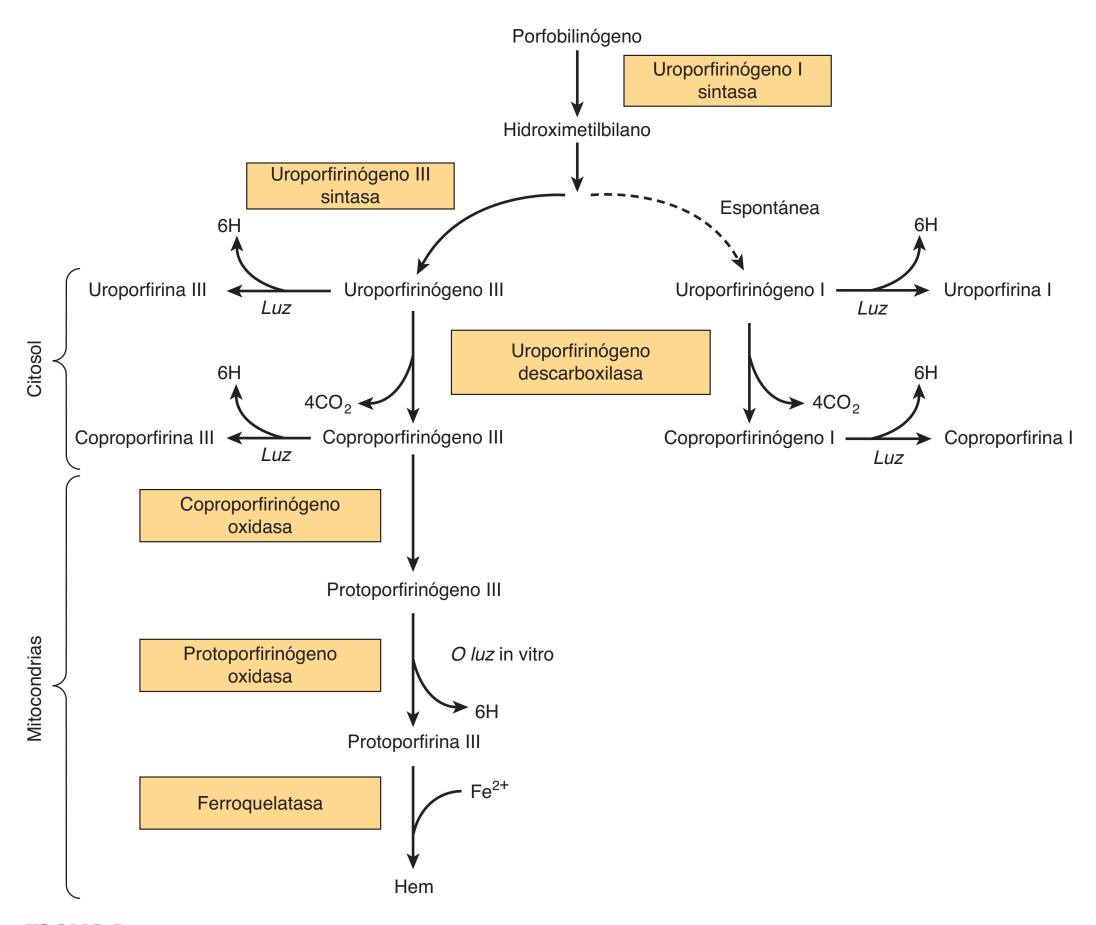


FIGURA 31–8 **Pasos en la biosíntesis de los derivados de porfirina a partir del porfobilinógeno.** La uroporfirinógeno I sintasa también se llama porfobilinógeno desaminasa o hidroximetilbilano sintasa.

La importancia de algunos de estos mecanismos reguladores se comenta con mayor detalle más adelante cuando se describen las porfirias.

La regulación de la forma **eritroide** de la ALAS (ALAS2) difiere de la de ALAS1. Por ejemplo, no es inducida por los medicamentos que afectan a la ALAS1, y el hem no causa regulación de la misma por retroacción.

LAS PORFIRINAS TIENEN COLOR Y MUESTRAN FLUORESCENCIA

Los diversos **porfirinógenos** son **incoloros**, mientras que todas las diversas **porfirinas** son de **color**. En el estudio de porfirinas o de derivados de porfirina, el **espectro de absorción característico** que cada uno muestra —en las regiones tanto visible como ultravioleta del espectro— tiene gran valor. Un ejemplo es la curva de absorción para una solución de porfirina en ácido clorhídrico al 5% (**figura 31-10**). Note en especial la banda de absorción aguda **cerca de 400 nm**, la cual es una característica distintiva del anillo de porfirina y es típica de todas las porfirinas, al margen de las cadenas laterales presentes. Dicha banda se denomina **banda de Soret** en honor a su descubridor, el físico francés Charles Soret.

Cuando porfirinas disueltas en ácidos minerales fuertes o en solventes orgánicos se iluminan mediante luz ultravioleta, emiten una fuerte **fluorescencia** de color rojo, la cual es tan característica que suele usarse para detectar pequeñas cantidades de porfirinas libres. Los **dobles enlaces** que unen los anillos pirrol en las porfirinas son la causa de la absorción y la fluorescencia típicas de estos compuestos; estos dobles enlaces no se encuentran en los porfirinógenos.

Una interesante posible aplicación de las propiedades fotodinámicas de las porfirinas es en el tratamiento de ciertos tipos de cáncer, procedimiento llamado **fototerapia de cáncer**. Los tumores a menudo captan más porfirinas que los tejidos normales. De esta manera, se administran **hematoporfirina** u otros compuestos vinculados a un paciente que tiene un tumor apropiado; a continuación se expone el tumor a un **láser de argón**, el cual excita las porfirinas y con ello suscita efectos citotóxicos.

La espectrofotometría se usa para efectuar pruebas para porfirinas y sus precursores

Las **coproporfirinas** y las **uroporfirinas** despiertan interés clínico porque se excretan en cantidades aumentadas en las porfirias. Estos compuestos, cuando están presentes en orina o heces, pueden separarse uno de otro por medio de extracción con mezclas solventes apropiadas. A continuación es posible identificarlos y cuantificarlos con métodos espectrofotométricos.

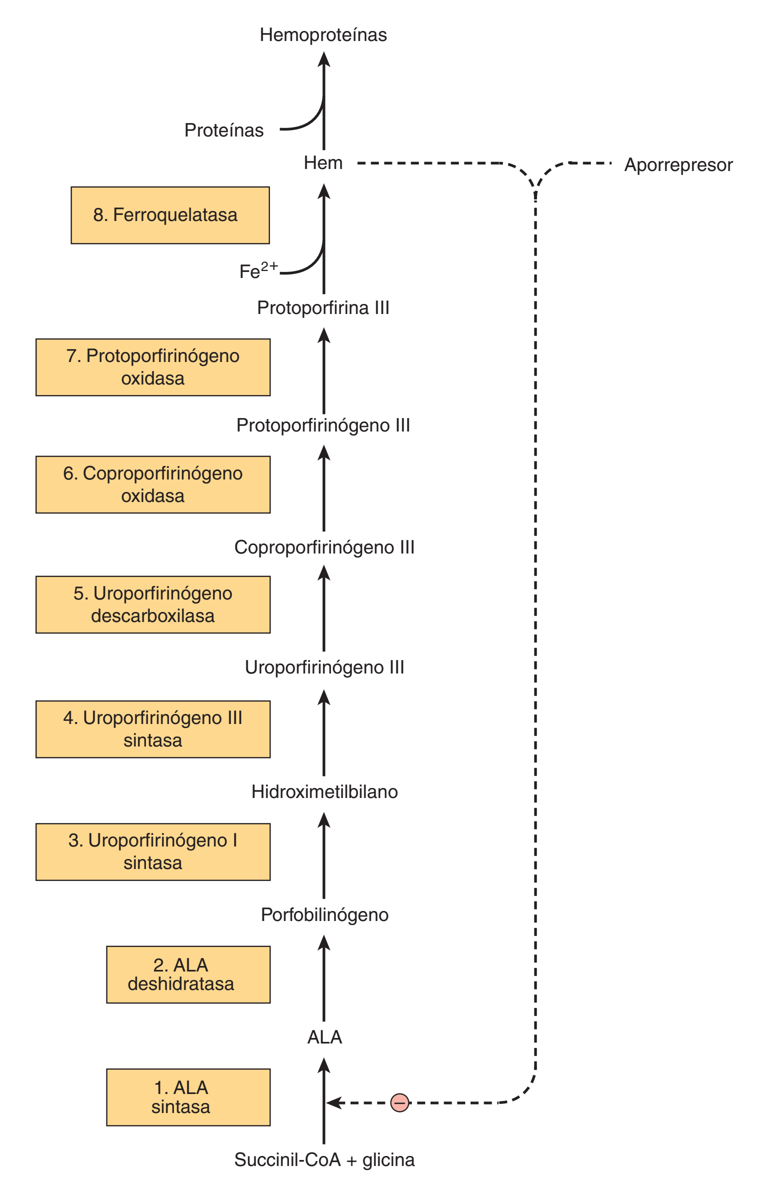


FIGURA 31–9 Intermediarios, enzimas y regulación de la síntesis del hem. Los números de enzima son aquellos a los que se hace referencia en la columna 1 del cuadro 31-2. Las enzimas 1, 6, 7 y 8 están localizadas en las mitocondrias, y las otras en el citosol. Las mutaciones del gen que codifica para la enzima 1 producen anemia sideroblástica ligada a X. Las mutaciones de los genes que codifican para las enzimas 2 a 8 ocasionan las porfirias, aunque sólo se han informado algunos casos debidos a deficiencia de la enzima 2. La síntesis hepática de hem se regula en la ALA sintasa (ALAS1) por medio de un mecanismo de represión-desrepresión mediado por hem y su aporrepresor hipotético. Las líneas punteadas indican la regulación negativa (–) por represión. La enzima 3 también recibe el nombre de porfobilinógeno desaminasa o hidroximetilbilano sintasa.

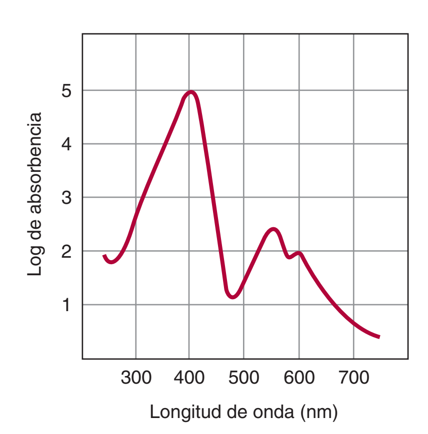


FIGURA 31–10 Espectro de absorción de la hematoporfirina (solución al 0.01% en HCl al 5%).

El **ALA** y el **PBG** también pueden medirse en la orina mediante pruebas colorimétricas apropiadas.

LAS PORFIRIAS SON TRASTORNOS GENÉTICOS DEL METABOLISMO DEL HEM

Las **porfirias** son un grupo de trastornos debidos a anormalidades de la vía de biosíntesis del hem; son **genéticos** o **adquiridos**. No son prevalecientes, pero es importante considerarlos en ciertas circunstancias (p. ej., en el diagnóstico diferencial de dolor en el abdomen y de diversos datos neuropsiquiátricos); de otro modo, los enfermos quedarán sujetos a tratamientos inapropiados. Se ha especulado que el rey Jorge III sufrió algún tipo de

CUADRO 31–2 Resumen de los datos importantes en las porfirias[1]

Enzima incluida[2]	Tipo, clase y número de OMIM	Signos y síntomas importantes	Resultados de análisis de laboratorio
1. ALA sintasa (forma eritroide)	Anemia sideroblástica ligada a X (eritropoyética) (OMIM 301300)[3]	Anemia	Recuento eritrocítico y cifras de hemoglobina disminuidos
2. ALA deshidratasa	Deficiencia de ALA deshidratasa (hepática) (OMIM 125270)	Dolor abdominal, síntomas neuropsiquiátricos	ALA y coproporfirina III urinarias aumentadas
3. Uroporfirinógeno I sintasa[4]	Porfiria intermitente aguda (hepática) (OMIM 176000)	Dolor abdominal, síntomas neuropsiquiátricos	ALA y PBG urinarios aumentados
4. Uroporfirinógeno III sintasa	Eritropoyética congénita (eritropoyética) (OMIM 263700)	Fotosensibilidad	Uroporfirina I urinaria, fecal y eritrocítica aumentada
5. Uroporfirinógeno descarboxilasa	Porfiria cutánea *tarda* (hepática) (OMIM 176100)	Fotosensibilidad	Uroporfirina I urinaria aumentada
6. Coproporfirinógeno oxidasa	Coproporfiria hereditaria (hepática) (OMIM 121300)	Fotosensibilidad, dolor abdominal, síntomas neuropsiquiátricos	ALA, PBG y coproporfirina III urinarias, y coproporfirina III fecal, aumentados
7. Protoporfirinógeno oxidasa	Porfiria *variegata* (hepática) (OMIM 176200)	Fotosensibilidad, dolor abdominal, síntomas neuropsiquiátricos	ALA, PBG y coproporfirina III urinarias, y protoporfirina IX fecal aumentados
8. Ferroquelatasa	Protoporfiria (eritropoyética) (OMIM 177000)	Fotosensibilidad	Protoporfirina IX fecal y de eritrocitos aumentada

[1]Sólo se listan los datos bioquímicos en las etapas activas de estas enfermedades. Ciertas anormalidades bioquímicas son detectables durante las etapas latentes de algunas de las enfermedades antedichas. Las enfermedades 3, 5 y 8 en general son las porfirias más prevalecientes. La enfermedad 2 es rara.
[2]La numeración de las enzimas en este cuadro corresponde a la usada en la figura 31-9.
[3]La anemia sideroblástica ligada a X no es una porfiria pero se incluye aquí porque hay afección de la ALA sintasa.
[4]Esta enzima también se llama PBG desaminasa o hidroximetilbilano sintasa.
Abreviaturas: ALA, ácido δ-aminolevulínico; PBG, porfobilinógeno; OMIM, *Online Mendelian Inheritance in Man*.

porfiria, lo que quizá explique sus confinamientos periódicos en el castillo de Windsor, y tal vez algunas de sus opiniones respecto a los colonos americanos. Asimismo, la **fotosensibilidad** (que favorece actividades nocturnas) y la **desfiguración** grave mostradas por algunas víctimas de porfiria eritropoyética congénita han llevado a sugerir que estos individuos quizá hayan sido los prototipos de los denominados "**hombres lobo**". No se ha presentado evidencia para apoyar esta noción.

La bioquímica fundamenta las causas, los diagnósticos y los tratamientos de las porfirias

Se han descrito seis tipos principales de **porfiria**, mismos que se producen por depresiones de las actividades de las enzimas 3 a 8 que se muestran en la figura 31-9 (véase también el **cuadro 31-2**). Así, la valoración de la actividad de una o más de estas enzimas usando una fuente apropiada (p. ej., eritrocitos) tiene importancia para hacer un diagnóstico definitivo de un caso sospechado de porfiria. Los sujetos con actividades bajas de la enzima 1 (ALAS2) presentan anemia, no porfiria (cuadro 31-2). Se ha informado la existencia de pacientes con actividad baja de la enzima 2 (ALA deshidratasa), pero muy rara vez; la enfermedad resultante recibe el nombre de porfiria con deficiencia de ALA deshidratasa.

En general, las porfirias descritas se **heredan** de una manera autosómica dominante, con la excepción de la porfiria eritropoyética congénita, cuya herencia es recesiva. Las anormalidades precisas en los genes que dirigen las síntesis de las enzimas afectadas en la biosíntesis del hem se han determinado en algunos casos. De este modo, el uso de sondas de gen apropiadas ha hecho posible el **diagnóstico prenatal** de algunas de las porfirias.

Como sucede con casi todos los **errores congénitos**, los signos y síntomas de porfiria se producen por una **deficiencia** de productos metabólicos más allá del bloqueo enzimático, o por una **acumulación** de metabolitos detrás del bloqueo.

Si la lesión enzimática ocurre al **principio** de la vía, antes de la formación de porfirinógenos (p. ej., enzima 3 de la figura 31-9, que está afectada en la porfiria intermitente aguda), se acumularán **ALA** y **PBG** en los tejidos y líquidos corporales (**figura 31-11**). Desde el punto de vista clínico, los enfermos se quejan de **dolor en el abdomen** y **síntomas neuropsiquiátricos**. No se ha determinado la causa bioquímica exacta de estos síntomas, pero tal vez se relacionen con cifras altas de ALA o PBG, o con una deficiencia de hem.

Por otra parte, los bloqueos enzimáticos **más adelante** en la vía dan por resultado la **acumulación de los porfirinógenos** indicados en las figuras 31-9 y 31-11. Sus productos de oxidación, los derivados porfirina correspondientes, originan **fotosensibilidad**, una reacción a la luz visible de alrededor de 400 nm. Se cree que cuando las porfirinas quedan expuestas a luz de esta longitud de onda se "excitan" y luego reaccionan con oxígeno molecular para formar radicales de oxígeno. Estas últimas especies **lesionan lisosomas** y otros organelos. Los lisosomas dañados liberan sus enzimas degradantes, lo que causa grados variables de daño cutáneo, incluso formación de tejido cicatrizal.

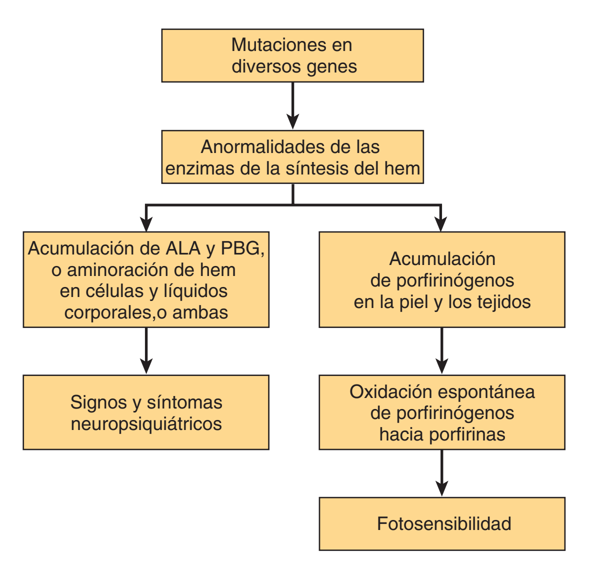


FIGURA 31–11 Causas bioquímicas de los principales signos y síntomas de las porfirias.

Las porfirias se **clasifican** con base en los **órganos o las células** más afectados; éstos por lo regular son órganos o células en los cuales la síntesis de hem es en particular activa. La **médula ósea** sintetiza cantidades considerables de hemoglobina, y el **hígado** es activo en la síntesis de otra hemoproteína, el citocromo P450. De este modo, una clasificación de las porfirias las designa como predominantemente **eritropoyéticas** o **hepáticas**; en el cuadro 31-2 se caracterizan así los tipos de porfirias que caen dentro de estas dos clases. Las porfirias también pueden clasificarse como **agudas** o **cutáneas** con base en sus características clínicas. ¿Por qué tipos específicos de porfiria afectan a ciertos órganos de manera más notoria que a otros? Una respuesta parcial es que las concentraciones de metabolitos que suscitan daño (p. ej., ALA, PBG, porfirinas específicas o falta de hem) pueden variar de modo notorio en diferentes órganos o células dependiendo de las actividades que difieren de sus enzimas formadoras de hem.

Como se describió, la **ALAS1** es la enzima reguladora clave de la vía biosintética del hem en el hígado. Muchos **fármacos** (p. ej., barbitúricos, griseofulvina) la inducen. Casi todos estos medicamentos lo hacen al inducir el citocromo P450 (cap. 53), que usa hem y, así, desreprime (induce) a la ALAS1. En individuos con porfiria, las actividades incrementadas de ALAS1 producen cifras aumentadas de precursores en potencia perjudiciales antes del bloqueo metabólico. De esta manera, la ingestión de **fármacos que ocasionan inducción del citocromo P450** (los llamados inductores microsómicos) puede precipitar ataques de porfiria.

El **diagnóstico** de un tipo específico de porfiria en general puede establecerse al considerar los **antecedentes clínicos** y **familiares**, el **examen físico**, y **análisis de laboratorio** apropiados. El cuadro 31-2 lista los datos importantes en los seis tipos principales de porfiria.

Las concentraciones altas de **plomo** pueden afectar el metabolismo del hem al combinarse con grupos SH en enzimas como la ferroquelatasa y la ALA deshidratasa, lo cual afecta al metabolismo de las porfirinas. Hay cifras altas de protoporfirina en los eritrocitos, así como de ALA y coproporfirina en la orina.

Se espera que el **tratamiento** de las porfirias en el ámbito de gen llegue a ser posible; entretanto, el tratamiento en esencia es sintomático. Es de importancia que los pacientes **eviten los fármacos** que dan por resultado inducción del citocromo P450. La ingestión de cantidades grandes de **carbohidratos** (carga de glucosa) o la administración de **hematina** (un hidróxido de hem) puede reprimir la ALAS1, lo que origina menor producción de precursores de hem perjudiciales. Los pacientes que muestran fotosensibilidad se benefician a partir de la administración de **β-caroteno**, que parece disminuir la producción de radicales libres, lo que aminora la fotosensibilidad. Las **pantallas solares** que filtran luz visible también suelen ser útiles para esos enfermos.

EL CATABOLISMO DEL HEM PRODUCE BILIRRUBINA

En condiciones normales en el adulto humano, cada día se destruyen 200 mil millones de eritrocitos. De este modo, en un día, un ser humano de 70 kg recambia cerca de **6 g de hemoglobina** al día. Cuando la hemoglobina se destruye en el cuerpo, la **globina** se degrada hacia los aminoácidos que la constituyen, mismos que se vuelven a emplear, y el **hierro** del hem entra al fondo común de hierro, también para que se vuelva a usar. La porción **porfirina** libre de hierro del hem también se degrada, principalmente en las células reticuloendoteliales del hígado, el bazo y la médula ósea.

El **catabolismo del hem** a partir de todas las proteínas hem parece llevarse a cabo en las fracciones microsómicas de células mediante un sistema enzimático complejo denominado **hem oxigenasa**. Para el momento en que el hem derivado de proteínas llega al sistema de oxigenasa, el hierro por lo general se ha oxidado hacia la forma **férrica**, lo que constituye la **hemina**. El sistema de hem oxigenasa es inducible por sustrato. La hemina se **reduce** a hem con NADPH y, con la ayuda de más NADPH, se añade oxígeno al puente de α-metino entre los pirroles I y II de la porfirina (**figura 31-12**). El hierro ferroso se **oxida de nuevo** hacia la forma férrica. Con la adición de oxígeno, se libera **ion férrico**, y se producen **monóxido de carbono**, así como una cantidad equimolar de **biliverdina** por la división del anillo tetrapirrol.

En aves y anfibios, la **biliverdina IX** de color verde se excreta; en mamíferos, una enzima soluble llamada **biliverdina reductasa** reduce el puente de metino entre los pirroles III y IV hacia un grupo metileno para producir **bilirrubina**, un pigmento de color amarillo (figura 31-12).

Se estima que **1 g de hemoglobina** da **35 mg de bilirrubina**. En humanos adultos cada día se forman alrededor de 250 a 350 mg de bilirrubina, derivada principalmente no sólo de la hemoglobina, sino también de eritropoyesis ineficaz y de varias otras proteínas hem, como el citocromo P450.

La conversión química de hem en bilirrubina por las células reticuloendoteliales puede observarse *in vivo* conforme el color púrpura del hem en un **hematoma** se convierte con lentitud en el pigmento amarillo de la bilirrubina.

La albúmina plasmática **transporta hacia el hígado** la bilirrubina formada en tejidos periféricos. El **metabolismo adicio-**

FIGURA 31–12 Representación esquemática del sistema de hem oxigenasa microsomal. El orden de los grupos de cadena lateral en la bilirrubina (de izquierda a derecha) es M, V, M, P, P, M, M, V (M, metilo; V, vinilo; P, propionilo). Redibujada, con autorización, por Antony McDonagh a partir de Schmid R, McDonough AF en: *The Porphyrins.* Dolphin D [ed.]. Academic Press, 1978. Reimpresa con autorización de Elsevier.)

nal de la bilirrubina sucede principalmente en el hígado. Se divide en tres procesos: 1) captación de bilirrubina por las células parenquimatosas del hígado, 2) conjugación de bilirrubina con glucuronato en el retículo endoplásmico y 3) secreción de bilirrubina conjugada hacia la bilis. Cada uno de estos procesos se considerará por separado.

EL HÍGADO CAPTA BILIRRUBINA

La bilirrubina sólo es un **poco hidrosoluble** en agua, pero la unión no covalente a albúmina incrementa su solubilidad en el plasma. Cada molécula de albúmina parece tener un sitio de alta afinidad y uno de baja afinidad por bilirrubina. En 100 ml de plasma, cerca de 25 mg de bilirrubina pueden estar estrechamente unidos a albúmina en su sitio de afinidad alta. La bilirrubina que excede esta cantidad sólo puede unirse de manera laxa y, así, se puede desprender y difundir con facilidad hacia los tejidos. Varios compuestos, como los **antibióticos y otros fármacos**, compiten con la bilirrubina por el sitio de alta afinidad en la albúmina. Así, estos compuestos pueden desplazar a la bilirrubina desde la albúmina, y tienen efectos clínicos importantes.

En el hígado, la bilirrubina se separa de la albúmina y se capta en la superficie sinusoidal de los hepatocitos por medio de un sistema saturable mediado por acarreador. Este **sistema de transporte facilitado** tiene capacidad muy grande, de manera que incluso en condiciones patológicas no parece ser limitante en el metabolismo de la bilirrubina.

Dado que dicho sistema permite el equilibrio de bilirrubina a través de la membrana sinusoidal del hepatocito, la captación neta de bilirrubina dependerá de la **eliminación** de esta última por medio de vías metabólicas subsiguientes.

Una vez que la bilirrubina entra en los hepatocitos, es posible su **unión a ciertas proteínas citosólicas**, que ayudan a mantenerla solubilizada antes de la conjugación. La **ligandina** (un miembro de la familia de las glutatión *S*-transferasas) y la **proteína Y** son las proteínas involucradas. También pueden ayudar a prevenir el flujo de salida de bilirrubina de regreso hacia el torrente sanguíneo.

La bilirrubina se conjuga con ácido glucurónico en el hígado

La bilirrubina es **no polar** y persistiría en las células (p. ej., unida a lípidos) si no se hiciera hidrosoluble. Al añadirle moléculas de ácido glucurónico, los hepatocitos convierten la bilirrubina en una forma **polar**, que se excreta con facilidad en la bilis. Este proceso se llama **conjugación**, y puede emplear otras moléculas polares que no son ácido glucurónico (p. ej., sulfato). Muchas hormonas y medicamentos esteroides también se convierten en derivados hidrosolubles por medio de conjugación en preparación para excreción (**cap. 53**).

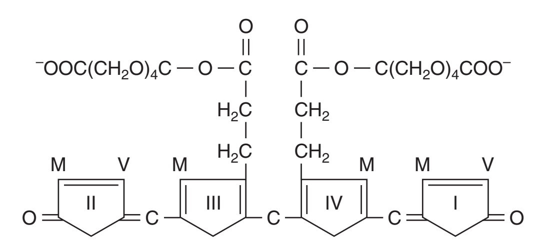


FIGURA 31–13 Estructura del diglucurónido de bilirrubina (bilirrubina conjugada, "de reacción directa"). El ácido glucurónico está fijo mediante enlace éster a los dos grupos de ácido propiónico de la bilirrubina para formar un acilglucurónido.

La conjugación de bilirrubina es catalizada por una **glucuronosiltransferasa** específica. La enzima está localizada principalmente en el retículo endoplásmico, usa ácido UDP-glucurónico como donador de glucuronosilo, y se denomina bilirrubina-UGT. El monoglucurónido de bilirrubina es un intermediario, y después se convierte en el **diglucurónido** (**figuras 31-13** y **31-14**). Casi toda la bilirrubina que se excreta en la bilis de mamíferos está en la forma de diglucurónido de bilirrubina. Aun así, cuando conjugados de bilirrubina existen de modo anormal en el **plasma de seres humanos** (p. ej., en la ictericia obstructiva), son predominantemente **monoglucurónidos**. Diversos fármacos útiles en clínica son capaces de **inducir** la actividad de la bilirrubina-UGT, entre ellos el fenobarbital. En la exposición, más adelante, respecto a trastornos hereditarios de la conjugación de la bilirrubina se presenta más información sobre la glucuronosilación.

La bilirrubina se excreta hacia la bilis

La bilirrubina conjugada se **secreta** hacia la bilis por medio de un mecanismo de **transporte activo**, que probablemente es limitante para todo el proceso del metabolismo hepático de la bilirrubina. La proteína involucrada es la **MRP-2** (una proteína parecida a la de resistencia a múltiples fármacos 2), también llamada transportador de anión orgánico multiespecífico (MOAT).

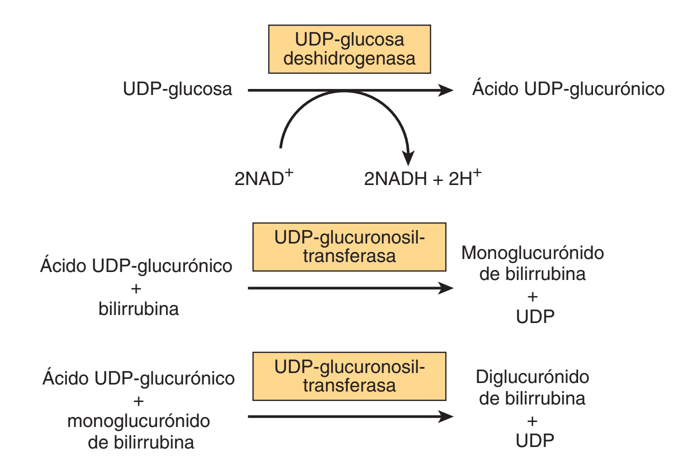


FIGURA 31–14 Conjugación de bilirrubina con ácido glucurónico. El donador de glucuronato, ácido UDP-glucurónico, se forma a partir de UDP-glucosa como se describe. La UDP-glucuronosiltransferasa también se llama bilirrubina-UGT.

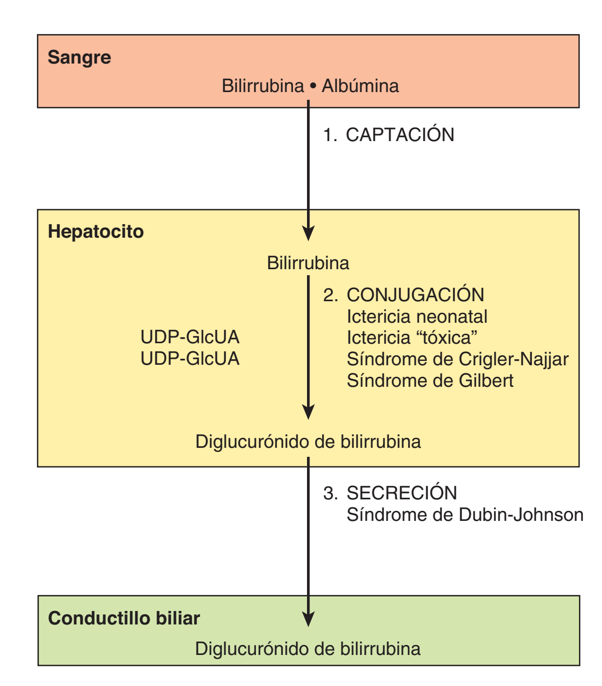


FIGURA 31–15 Diagrama que representa los tres procesos principales (captación, conjugación y secreción) comprendidos en la transferencia de bilirrubina desde la sangre hacia la bilis. Ciertas proteínas de los hepatocitos, como la ligandina (un miembro de la familia de enzimas glutatión *S*-transferasa) y la proteína Y, se unen a la bilirrubina intracelular y pueden evitar su flujo de salida hacia el torrente sanguíneo. También se muestra el proceso afectado en diversas enfermedades que originan ictericia.

Se localiza en la **membrana plasmática** de la membrana de los canalículos biliares, y maneja varios aniones orgánicos. Es un miembro de la familia de los transportadores de casete de unión a ATP. El transporte hepático de bilirrubina conjugada hacia la bilis es **inducible** por los fármacos que tienen la capacidad de inducir la conjugación de bilirrubina. De esta manera, los sistemas de conjugación y excreción para bilirrubina se comportan como una unidad funcional coordinada.

En la **figura 31-15** se resumen los tres procesos principales incluidos en la **transferencia de bilirrubina** desde la sangre hacia la bilis. También se indican los sitios afectados en diversas enfermedades que dan por resultado ictericia (véase adelante).

Las bacterias intestinales reducen la bilirrubina conjugada hacia urobilinógeno

A medida que la bilirrubina conjugada llega al íleon terminal y al intestino grueso, enzimas bacterianas específicas (**β-glucuronidasas**) eliminan los glucurónidos, y luego la flora fecal **reduce** el pigmento hacia un grupo de compuestos tetrapirrólicos incoloros llamados **urobilinógenos**. En el íleon terminal y el intestino grueso, una pequeña fracción de los urobilinógenos se resorbe y se vuelve a excretar por medio del hígado para constituir el **ciclo enterohepático del urobilinógeno**. En condiciones anormales, en especial cuando se forma pigmento biliar excesivo o la enfermedad hepática interfiere con este ciclo intrahepático, el urobilinógeno también puede excretarse en **la orina**.

En circunstancias normales, la mayor parte de los urobilinógenos incoloros formados en el colon por la flora fecal se **oxida** ahí hacia **urobilinas** (compuestos coloreados), y se excreta en las heces. El oscurecimiento de las heces expuestas al aire se debe a la oxidación de urobilinógenos residuales hacia urobilinas.

LA HIPERBILIRRUBINEMIA ORIGINA ICTERICIA

Cuando la bilirrubina en sangre excede 1 mg/dl (17.1 mmol/L), existe **hiperbilirrubinemia**, la cual quizá se deba a la **producción** de más bilirrubina de la que el hígado normal puede excretar, o al **fracaso** de un hígado dañado para **excretar** bilirrubina producida en cantidades normales. En ausencia de daño hepático, la **obstrucción** de los conductos excretores del hígado —al impedir la excreción de bilirrubina— también suscitará hiperbilirrubinemia. En todas estas situaciones, se acumula bilirrubina en sangre, y cuando alcanza una cierta concentración (alrededor de 2 a 2.5 mg/dl) se difunde hacia los tejidos, que entonces adoptan un color amarillo. Ese estado recibe el nombre de **ictericia**.

En estudios clínicos de ictericia, la **medición de la bilirrubina en el suero** tiene gran valor. El primer método para valorar de modo cuantitativo el contenido de bilirrubina del suero fue ideado por **van den Bergh**, mediante la aplicación de la **prueba de Ehrlich** para bilirrubina en la orina. La reacción de Ehrlich se basa en el acoplamiento de ácido sulfanílico diazotizado (reactivo diazo de Ehrlich) y bilirrubina para producir un compuesto azo de color púrpura-rojizo. En el procedimiento original descrito por Ehrlich, se usó **metanol** para proporcionar una solución en la cual fueron solubles tanto la bilirrubina como el reactivo diazo. Van den Bergh omitió de manera inadvertida el metanol en una ocasión cuando estaba intentando valorar el pigmento biliar en bilis humana. Para su sorpresa, la aparición normal del color ocurrió "de modo directo". Así, esta forma de bilirrubina que reaccionaría sin la adición de metanol se llamó **"de reacción directa"**. Después se encontró que esta misma reacción directa también sucedía en suero de individuos con ictericia debida a obstrucción biliar. Comoquiera que sea, aún fue necesario añadir metanol para detectar bilirrubina en el suero normal o la que estuvo presente en exceso en el suero de sujetos con ictericia hemolítica en los cuales no se halló evidencia de obstrucción. A esa forma de bilirrubina que sólo podía medirse luego de la adición de metanol, se aplicó el término **"de reacción indirecta"**.

Después se descubrió que la **bilirrubina indirecta es bilirrubina "libre"** (no conjugada) en ruta al hígado desde los tejidos reticuloendoteliales, donde la bilirrubina se produjo originalmente por la desintegración de porfirinas hem. Puesto que esta bilirrubina no es hidrosoluble, requiere metanol para iniciar el acoplamiento con el reactivo diazo. En el hígado, la bilirrubina libre se **conjuga** con ácido glucurónico, y el conjugado, predominantemente diglucurónido de bilirrubina, puede excretarse entonces hacia la bilis. Además, la bilirrubina conjugada, al ser hidrosoluble, puede reaccionar de manera directa con el reactivo diazo, de modo que la "bilirrubina directa" de van den Bergh en realidad es un conjugado de bilirrubina (glucurónido de bilirrubina).

CUADRO 31–3 Algunas causas de hiperbilirrubinemia no conjugada y conjugada

No conjugada	Conjugada
Anemias hemolíticas	Obstrucción del árbol biliar
"Ictericia fisiológica" neonatal	Síndrome de Dubin–Johnson
Síndrome de Crigler–Najjar tipos I y II	Síndrome de Rotor
Síndrome de Gilbert	Enfermedades hepáticas como los diversos tipos de hepatitis
Hiperbilirrubinemia tóxica	

Estas causas se comentan brevemente en el texto. Las causas comunes de obstrucción del árbol biliar son un cálculo en el colédoco y cáncer de la cabeza del páncreas. Varias enfermedades del hígado (p. ej., diversos tipos de hepatitis) son causas frecuentes de hiperbilirrubinemia predominantemente conjugada.

Dependiendo del tipo de bilirrubina presente en el plasma —es decir, conjugada o no conjugada—, la hiperbilirrubinemia se clasifica como **hiperbilirrubinemia por retención**, debida a producción excesiva, o **hiperbilirrubinemia por regurgitación**, debida a reflujo hacia el torrente sanguíneo por obstrucción biliar.

La bilirrubina no conjugada y la especie conjugada se pueden separar y cuantificar usando **cromatografía líquida** de alta presión.

Debido a su **hidrofobicidad**, sólo la bilirrubina no conjugada puede cruzar la barrera hematoencefálica hacia el sistema nervioso central; de esta manera, la encefalopatía debida a hiperbilirrubinemia **(kernícterus)** sólo puede ocurrir en relación con bilirrubina no conjugada, como se encuentra en la hiperbilirrubinemia por retención. Por otra parte, debido a su hidrosolubilidad, únicamente la bilirrubina conjugada puede aparecer en la orina. En consecuencia, la **ictericia colúrica** (coluria es la presencia de pigmentos biliares en la orina) sólo sucede en la hiperbilirrubinemia por regurgitación, y la **ictericia acolúrica** únicamente ocurre en presencia de un exceso de bilirrubina no conjugada.

En el **cuadro 31-3** se listan algunas causas de la hiperbilirrubinemia no conjugada y conjugada. Estas condiciones se describen brevemente en las secciones que siguen.

En diversas enfermedades hay cantidades altas de bilirrubina no conjugada en la sangre

Anemias hemolíticas

Son causas importantes de hiperbilirrubinemia no conjugada, aunque esta última **generalmente sólo es leve** (<4 mg/dl; <68.4 μmol/L) incluso en caso de hemólisis extensa, debido a la gran capacidad del hígado sano para manejar la bilirrubina.

"Ictericia fisiológica" neonatal

Este estado **transitorio** es el origen más frecuente de hiperbilirrubinemia no conjugada. Se produce por hemólisis acelerada alrededor del momento del **nacimiento**, y por un sistema hepático inmaduro para la captación, conjugación y secreción de

bilirrubina. No sólo hay reducción de la actividad de bilirrubina-UGT, sino que probablemente hay síntesis reducida del sustrato para esa enzima, el ácido UDP-glucurónico. Dado que la cantidad aumentada de bilirrubina es no conjugada, tiene la capacidad de penetrar en la barrera hematoencefálica cuando su concentración en el plasma excede aquella a la cual la albúmina puede unirse estrechamente (20 a 25 mg/dl). Esto puede causar una encefalopatía tóxica hiperbilirrubinémica, o **kernícterus**, que puede suscitar retraso mental. Debido a la inducibilidad reconocida de este sistema metabolizador de bilirrubina, se ha administrado **fenobarbital** a recién nacidos ictéricos, y es eficaz en este trastorno. La exposición a **luz azul** (fototerapia) promueve la excreción hepática de bilirrubina no conjugada al convertir algo de la bilirrubina en otros derivados, como fragmentos maleimida e isómeros geométricos que se excretan en la bilis.

Síndrome de Crigler-Najjar tipo I; ictericia no hemolítica congénita

El **síndrome de Crigler-Najjar tipo I** es un **raro** trastorno autosómico recesivo. Se caracteriza por ictericia congénita grave (la bilirrubina sérica por lo general excede 20 mg/dl) debida a mutaciones del gen que codifica para la actividad de **bilirrubina-UGT** en tejidos hepáticos. La enfermedad suele ser mortal en el transcurso de los primeros 15 meses de vida. Los niños afectados han sido tratados con **fototerapia**, lo que produce cierta reducción de las cifras plasmáticas de bilirrubina. El fenobarbital no tiene efecto sobre la formación de glucurónidos de bilirrubina en pacientes con síndrome de Crigler-Najjar tipo I. Un **trasplante hepático** es una medida curativa.

Cabe hacer notar que el gen que codifica para la bilirrubina-UGT humana forma parte del complejo grande de genes que codifican para UGT situado en el cromosoma 2. Muchos sustratos diferentes están sujetos a glucuronosilación, de modo que se necesitan **muchas glucuronosiltransferasas**. El complejo contiene aproximadamente 13 primeros exones específicos para sustrato, cada uno con su propio promotor. Cuatro son seudogenes, de manera que están codificadas nueve isoformas diferentes con actividades de glucuronosiltransferasa que difieren. El exón A1 es el involucrado en la conjugación de bilirrubina. En el caso de la bilirrubina, el exón A1 se divide hacia los exones 2 a 5 que contienen DNA, lo que produce bilirrubina-UGT. Otras transferasas se producen por división de otros primeros exones (miembros de A 2 a 13) hacia exones 2 a 5.

Síndrome de Crigler-Najjar tipo II

Este **raro** trastorno hereditario también se produce por mutaciones del gen que codifica para bilirrubina-UGT, pero se retiene algo de actividad de la enzima, y la evolución de la enfermedad es **más benigna** que la del tipo I. Las concentraciones séricas de bilirrubina regularmente no exceden 20 mg/dl. Los afectados pueden mostrar respuesta al tratamiento con dosis grandes de **fenobarbital**.

Síndrome de Gilbert

De nuevo, esta enfermedad relativamente prevaleciente es el resultado de mutaciones del gen que codifica para la bilirrubina-UGT. Predomina en **varones**. Alrededor de 30% de la actividad de la enzima está preservada, y la enfermedad es por completo **inocua**.

Hiperbilirrubinemia tóxica

La **hiperbilirrubinemia no conjugada** puede originarse por disfunción hepática **inducida por toxina**, como la causada por cloroformo, arsfenaminas, tetracloruro de carbono, acetaminofeno, virus de la hepatitis, cirrosis, e intoxicación por el hongo *Amanita*. Estos trastornos adquiridos se deben a daño de células del parénquima hepático, que altera la conjugación.

La obstrucción en el árbol biliar es la causa más frecuente de hiperbilirrubinemia conjugada

Obstrucción del árbol biliar

La **hiperbilirrubinemia conjugada** por lo general se produce por bloqueo de los conductos hepáticos o del colédoco, más a menudo debido a un **cálculo biliar** o a **cáncer** de la cabeza del páncreas (**figura 31-16**). Debido a la obstrucción, es imposible que haya excreción de diglucurónido de bilirrubina. De esta manera, se regurgita hacia las venas y los linfáticos hepáticos, y aparece bilirrubina conjugada en la sangre y la orina (**ictericia colúrica**). Asimismo, las **heces** a menudo son de color pálido y deben examinarse de modo sistemático en cualquier caso de ictericia.

El término **ictericia colestática** se usa para incluir todos los casos de ictericia obstructiva extrahepática. También cubre

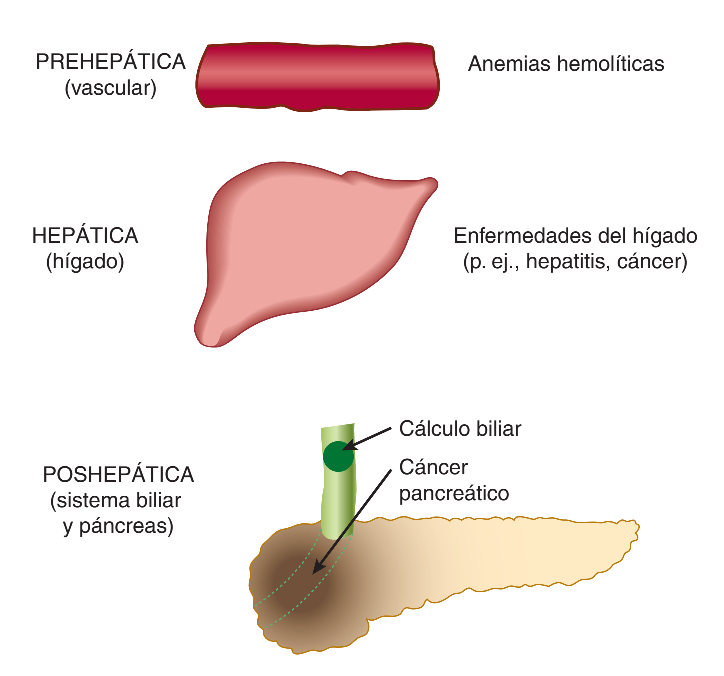


FIGURA 31–16 Diagrama que representa algunas causas importantes de ictericia. Prehepática indica eventos en el torrente sanguíneo; la principal causa serían diversas formas de anemia hemolítica (cap. 52). **Hepática** significa eventos en el hígado, como los diversos tipos de hepatitis u otras formas de enfermedad del hígado (p. ej., cáncer). **Poshepática** se refiere a eventos en el árbol biliar; las principales causas de ictericia poshepática son obstrucción del colédoco por un cálculo (cálculo biliar) o por cáncer de la cabeza del páncreas.

CUADRO 31–4 Resultados de laboratorio en sujetos normales y pacientes con tres diferentes causas de ictericia

Estado o enfermedad	Bilirrubina sérica	Urobilinógeno urinario	Bilirrubina en la orina	Urobilinógeno fecal
Normal	Directa: 0.1 a 0.4 mg/dl	0 a 4 mg/24 h	No hay	40 a 280 mg/24 h
	Indirecta: 0.2 a 0.7 mg/dl			
Anemia hemolítica	↑Indirecta	Incrementado	No hay	Aumentado
Hepatitis	↑Directa e indirecta	Disminuido si hay microobstrucción	Presente si hay microobstrucción	Disminuido
Ictericia obstructiva[1]	↑Directa	No hay	Presente	Cantidad traza o no hay

[1]Las causas más frecuentes de ictericia obstructiva (poshepática) son cáncer de la cabeza del páncreas, y un cálculo biliar alojado en el colédoco. La presencia de bilirrubina en la orina en ocasiones se denomina coluria; por ende, la hepatitis y la obstrucción del colédoco originan ictericia colúrica, mientras que la ictericia propia de la anemia hemolítica se denomina acolúrica. Los resultados de laboratorio en sujetos con hepatitis son variables, dependiendo de la extensión del daño de las células del parénquima, y de la extensión de la microobstrucción de los conductillos biliares. Las cifras séricas de **alanina aminotransferasa** (ALT) y **aspartato aminotransferasa** (AST) por lo general están notoriamente altas en individuos con hepatitis, mientras que las de **fosfatasa alcalina** están altas en la hepatopatía obstructiva.

los casos de ictericia que muestran hiperbilirrubinemia conjugada debido a microobstrucción de conductillos biliares intrahepáticos por hepatocitos tumefactos y dañados (como puede suceder en la hepatitis infecciosa).

Síndrome de Dubin-Johnson

Este trastorno autosómico recesivo **benigno** consta de **hiperbilirrubinemia conjugada** durante la niñez o la vida adulta. La hiperbilirrubinemia se produce por mutaciones en el gen que codifica para **MRP-2** (véase antes), la proteína incluida en la **secreción** de bilirrubina conjugada hacia la bilis. Los hepatocitos centrilobulillares contienen un pigmento de color negro anormal que tal vez se derive de la epinefrina.

Síndrome de Rotor

Es una rara enfermedad **benigna** caracterizada por hiperbilirrubinemia conjugada crónica y datos histológicos normales en el hígado. No se ha identificado su causa precisa.

Algo de bilirrubina conjugada puede unirse de manera covalente a la albúmina

Cuando las cifras de bilirrubina conjugada permanecen altas en el plasma, una fracción puede **unirse de modo covalente a la albúmina** (bilirrubina δ [delta]). Puesto que está unida de manera covalente a la albúmina, esta fracción tiene una **vida media más prolongada** en el plasma que la bilirrubina conjugada convencional. Así, permanece alta en el transcurso de la fase de recuperación de la ictericia obstructiva, luego de que el resto de la bilirrubina conjugada ha declinado hasta concentraciones normales; esto explica por qué algunos enfermos siguen pareciendo ictéricos después de que las cifras de bilirrubina conjugada han vuelto a lo normal.

El urobilinógeno y la bilirrubina en la orina son indicadores clínicos

En circunstancias normales sólo hay cantidades traza de **urobilinógeno** en la orina. En la **obstrucción completa del conducto biliar**, no se encuentra urobilinógeno en la orina, dado que la bilirrubina no tiene acceso al intestino, donde puede convertirse en urobilinógeno. En este caso, la presencia de bilirrubina (conjugada) en la orina sin urobilinógeno sugiere ictericia obstructiva, sea intrahepática o poshepática.

En la **ictericia consecutiva a hemólisis**, la producción aumentada de bilirrubina conduce a incremento de la producción de **urobilinógeno**, que aparece en la orina en grandes cantidades. La bilirrubina por lo general no se encuentra en la orina en la ictericia hemolítica (porque la bilirrubina no conjugada no pasa hacia la orina), de modo que la **combinación de urobilinógeno aumentado y ausencia de bilirrubina** es sugestiva de ictericia hemolítica. El incremento de la destrucción de sangre por cualquier causa desencadena un aumento del urobilinógeno urinario.

El **cuadro 31-4** resume los **resultados de laboratorio** obtenidos en individuos con tres diferentes causas de ictericia: **anemia hemolítica** (una causa prehepática), **hepatitis** (una causa hepática) y **obstrucción del colédoco** (una causa poshepática) (**figura 31-16**). Los análisis de laboratorio en la **sangre** (evaluación de la posibilidad de una anemia hemolítica, y medición del tiempo de protrombina) y en el **suero** (p. ej., electroforesis de proteínas; actividades de las enzimas ALT, AST y fosfatasa alcalina) también son importantes para ayudar a distinguir entre causas prehepáticas, hepáticas y poshepáticas de ictericia.

RESUMEN

- Las hemoproteínas, como la hemoglobina y los citocromos, contienen hem. El hem es un compuesto de hierro-porfirina (Fe^{2+}-protoporfirina IX) en el cual cuatro anillos pirrol están unidos por puentes de metino. Los ocho grupos laterales (sustituyentes metilo, vinilo y propionilo) en los cuatro anillos pirrol del hem están dispuestos en una secuencia específica.
- El anillo hem se biosintetiza en las mitocondrias y en el citosol por medio de ocho pasos enzimáticos. Comienza con la formación del δ-aminolevulinato (ALA) a partir de la succinil-CoA y la glicina en una reacción catalizada por la ALA sintasa, la enzima reguladora de la vía.
- Las anormalidades determinadas por mecanismos genéticos, de siete de las ocho enzimas involucradas en la biosíntesis del hem,

producen las porfirias hereditarias. Los eritrocitos y el hígado son los principales sitios de expresión metabólica de las porfirias. La fotosensibilidad y los problemas neurológicos son molestias frecuentes. La ingestión de ciertos compuestos (como plomo) puede ocasionar porfirias adquiridas. Pueden detectarse cantidades aumentadas de porfirinas o sus precursores en sangre y orina, lo que facilita el diagnóstico.

- El catabolismo del anillo hem se inicia por la enzima hem oxigenasa, lo que da por resultado un tetrapirrol lineal.
- La biliverdina es un producto temprano del catabolismo, y en el momento de reducción da bilirrubina. La albúmina transporta a esta última desde los tejidos periféricos hacia el hígado, donde es captada por los hepatocitos. El hierro de hem y los aminoácidos de la globina se conservan y reutilizan.
- En el hígado, la bilirrubina se hace hidrosoluble mediante conjugación con dos moléculas de ácido glucurónico, y se secreta hacia la bilis. La acción de las enzimas bacterianas en el intestino produce urobilinógeno y urobilina, que se excretan en las heces y la orina.
- La ictericia se debe a incremento de la concentración de bilirrubina en la sangre. Las causas de ictericia se clasifican como prehepáticas (p. ej., anemias hemolíticas), hepáticas (p. ej., hepatitis) y poshepáticas (p. ej., obstrucción del colédoco). Las mediciones de la bilirrubina plasmática total y no conjugada, del urobilinógeno y la bilirrubina urinarios, y de ciertas enzimas séricas, así como la inspección y el análisis de muestras de heces, ayudan a distinguir entre estas causas.

REFERENCIAS

Beckett G, Walker S, Rae T, Ashby P: Liver disease (Chapter 13). In: *Lecture Notes: Clinical Biochemistry.* 8th ed. Wiley-Blackwell, 2010.

Deacon AC, Whatley SD, Elder GH: Porphyrins and disorders of porphyrin metabolism. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics,* 4th ed. Ch. 32. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (editors). Elsevier Saunders, 2006.

Desnick RJ, Astrin KH: The porphyrias. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 17th ed. Fauci AS et al (editors). Ch. 352. McGraw-Hill, 2008.

Dufour DR: Liver disease. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics,* 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (editors). Ch. 47. Elsevier Saunders, 2006.

Higgins T, Beutler E, Doumas BT: Hemoglobin, iron and bilirubin. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics,* 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (editors). Ch. 31. Elsevier Saunders, 2006.

Pratt DS, Kaplan MM: Evaluation of liver function. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 17th ed. Fauci AS et al (editors). Ch. 296. McGraw-Hill, 2008.

Pratt DS, Kaplan MM: Jaundice. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 17th ed. Fauci AS et al (editors). Ch. 43. McGraw-Hill, 2008.

Wolkoff AW: The hyperbilirubinemias. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 17th ed. Fauci AS et al (editors). Ch. 297. McGraw-Hill, 2008.

Preguntas de examen

Sección III

1. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA.
   A. La selenocisteína está presente en los sitios activos de ciertas enzimas de ser humano.
   B. La selenocisteína es insertada en proteínas mediante un proceso postraduccional.
   C. La transaminación de α-cetoácidos en la dieta puede reemplazar los aminoácidos esenciales en la dieta leucina, isoleucina y valina.
   D. La conversión de peptidilprolina en peptidil 4-hidroxiprolina se acompaña de la incorporación de oxígeno hacia succinato.
   E. La serina y la glicina son interconvertidas en una reacción única en la cual participan derivados del tetrahidrofolato.

2. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA.
   A. El Δ^1-pirrolina-5-carboxilato es un intermediario tanto en la biosíntesis de la L-prolina como en el catabolismo de la misma.
   B. Los tejidos de ser humano pueden formar aminoácidos no esenciales en la dieta a partir de intermediarios anfibólicos o a partir de aminoácidos esenciales en la dieta.
   C. El tejido hepático del ser humano puede formar serina a partir del intermediario glucolítico 3-fosfoglicerato.
   D. La reacción catalizada por la fenilalanina hidroxilasa interconvierte fenilalanina y tirosina.
   E. El poder reductor de la tetrahidrobiopterina se deriva finalmente del NADPH.

3. Identifique el metabolito que NO sirve como un precursor de un aminoácido esencial en la dieta:
   A. α-Cetoglutarato.
   B. 3-Fosfoglicerato.
   C. Glutamato.
   D. Aspartato.
   E. Histamina.

4. Seleccione la respuesta CORRECTA. La primera reacción en la degradación de casi todos los aminoácidos comunes comprende la participación de:
   A. NAD^+.
   B. Fosfato de piridoxal.
   C. Fosfato de tiamina (TPP).
   D. FAD.
   E. NAD^+ y TPP.

5. Identifique el aminoácido que es el principal contribuidor a la gluconeogénesis hepática.
   A. Alanina.
   B. Glutamina.
   C. Glicina.
   D. Lisina.
   E. Ornitina.

6. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA.
   A. La tasa de gluconeogénesis hepática a partir de glutamina es mucho más alta que la de cualquier otro aminoácido.
   B. El síndrome de Angelman se asocia con una ubiquitina E3 ligasa defectuosa.
   C. Después de una comida rica en proteína, los tejidos esplácnicos liberan predominantemente aminoácidos de cadena ramificada, que son captados por el tejido muscular periférico.
   D. La conversión de un α-aminoácido en su α-cetoácido correspondiente, catalizada por la L-α-amino oxidasa, se acompaña de la liberación de NH_4^+.
   E. Signos y síntomas similares o incluso idénticos pueden asociarse con diferentes mutaciones del gen que codifica para una enzima dada.

7. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA.
   A. Las secuencias PEST establecen a algunas proteínas como objetivo para degradación rápida.
   B. El ATP y la ubiquitina típicamente participan en la degradación de proteínas asociadas a membrana y proteínas con vida media prolongada.
   C. Las moléculas de ubiquitina se fijan a proteínas blanco por medio de enlaces peptídicos no α.
   D. Los descubridores de la degradación de proteína mediada por ubiquitina recibieron un premio Nobel.
   E. La degradación de proteínas marcadas con ubiquitina tiene lugar en el proteasoma, una macromolécula de múltiples subunidades presente en todos los eucariotes.

8. Para trastornos metabólicos del ciclo de la urea, ¿cuál afirmación es INCORRECTA?
   A. La intoxicación por amoniaco es más grave cuando el bloqueo metabólico ocurre antes de la reacción 3 del ciclo de la urea, catalizada por la argininosuccinato sintasa.
   B. Los síntomas clínicos son retraso mental y la evitación de alimentos ricos en proteína.
   C. Los signos clínicos comprenden hiperamonemia y acidosis respiratoria.
   D. El aspartato proporciona el segundo nitrógeno del argininosuccinato.
   E. El manejo con dieta se enfoca en una dieta baja en proteína ingerida como comidas pequeñas frecuentes.

9. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA.
   A. Una función metabólica de la glutamina es secuestrar nitrógeno en una forma no tóxica.
   B. La glutamato deshidrogenasa hepática es inhibida por el ATP, y activada por el ADP, de manera alostérica.
   C. La urea se forma a partir de amoniaco tanto producido por bacterias entéricas y absorbido, como generado por la actividad metabólica tisular.
   D. La acción concertada de la glutamato deshidrogenasa y de la glutamato aminotransferasa puede denominarse transdesaminación.
   E. El fumarato generado durante la biosíntesis de argininosuccinato finalmente forma oxaloacetato en reacciones catalizadas por fumarasa y malato deshidrogenasa mitocondriales.

10. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA.
    A. La histamina surge por descarboxilación de histidina.
    B. La treonina proporciona la porción tioetanol para biosíntesis de coenzima A.
    C. La ornitina sirve como un precursor tanto de la espermina como de la espermidina.
    D. La serotonina y la melatonina son metabolitos del triptófano.
    E. Glicina, arginina y metionina contribuyen, cada una, con átomos para la biosíntesis de creatina.

11. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA.
    A. La creatinina excretada está en función de la masa muscular, y puede usarse para determinar si un paciente ha proporcionado un espécimen completo de orina de 24 h.
    B. Muchos fármacos y catabolitos de fármacos se excretan en la orina como conjugados de glicina.
    C. La descarboxilación de glutamina forma el neurotransmisor inhibidor GABA (γ-aminobutirato).
    D. La concentración de histamina en el hipotálamo muestra un ritmo circadiano.
    E. El principal destino metabólico no proteínico de la metionina es la conversión en *S*-adenosilmetionina.

12. ¿Cuál de los que siguen no es una hemoproteína?
    A. Mioglobina.
    B. Citocromo C.
    C. Catalasa.
    D. Citocromo P450.
    E. Albúmina.

13. Un varón de 30 años de edad acudió a la clínica con un antecedente de dolor abdominal intermitente y episodios de confusión y problemas psiquiátricos. Los análisis de laboratorio revelaron aumentos del δ-aminolevulinato y porfobilinógeno urinarios. El análisis mutacional reveló una mutación en el gen que codifica para la uroporfirinógeno I sintasa (porfobilinógeno desaminasa). El diagnóstico probable fue:
    A. Anemia sideroblástica ligada a X.
    B. Porfiria intermitente aguda.
    C. Porfiria eritropoyética congénita.
    D. Porfiria cutánea tarda.
    E. Porfiria variegata.

14. De las afirmaciones que siguen, seleccione la que es INCORRECTA.
    A. La bilirrubina es un tetrapirrol cíclico.
    B. La bilirrubina es transportada en el plasma hacia el hígado unida a albúmina.
    C. La concentración alta de albúmina puede causar daño del cerebro de recién nacidos.
    D. La bilirrubina contiene grupos metilo y vinilo.
    E. La bilirrubina no contiene hierro.

15. Una mujer de 62 años de edad acudió a la clínica con ictericia intensa, que aumentó de manera constante durante los tres meses previos. Dio un antecedente de dolor intenso en la parte alta del abdomen, irradiado hacia la espalda, y había perdido considerable peso. Había notado que sus heces se habían hecho muy pálidas durante cierto tiempo. Los análisis de laboratorio revelaron una concentración muy alta de bilirrubina directa, y bilirrubina urinaria alta. La concentración plasmática de alanina aminotransferasa (ALT) sólo estuvo un poco alta, mientras que la de fosfatasa alcalina mostró un aumento notorio. La ecografía abdominal no reveló evidencia de cálculos biliares. De los que siguen, ¿cuál es el diagnóstico más probable?
    A. Síndrome de Gilbert.
    B. Anemia hemolítica.
    C. Síndrome de Crigler-Najjar tipo 1.
    D. Carcinoma del páncreas.
    E. Hepatitis infecciosa.

SECCIÓN IV

Estructura, función y replicación de macromoléculas informacionales

CAPÍTULO 32

Nucleótidos

Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Escribir fórmulas estructurales para representar los amino-tautómeros y oxo-tautómeros de una purina y de una pirimidina, y declarar cuál tautómero predomina en condiciones fisiológicas.
- Reproducir las fórmulas estructurales para los principales nucleótidos presentes en el DNA y en el RNA, y los nucleótidos menos comunes 5-metilcitosina, 5-hidroximetilcitosina, y seudouridina (ψ).
- Representar la D-ribosa o 2-desoxi-D-ribosa enlazada como un conformador *sin* o *anti* de una purina, nombrar el enlace entre el azúcar y la base, e indicar cuál conformador predomina en casi todas las condiciones fisiológicas.
- Numerar los átomos C y N de un nucleótido pirimidina y de un nucleósido purina, incluso el empleo de un número con una prima para átomos de C de los azúcares.
- Comparar el potencial de transferencia de grupo fosforilo de cada grupo fosforilo de un nucleósido trifosfato.
- Esbozar las funciones fisiológicas de los fosfodiésteres cíclicos cAMP y cGMP.
- Apreciar que los polinucleótidos son macromoléculas direccionales compuestas de mononucleótidos enlazados por enlaces 3′ → 5′-fosfodiéster.
- Entender que en las representaciones abreviadas de estructuras de polinucleótido como pTpGpT o TGCATCA, el extremo 5′ siempre se muestra a la izquierda y todos los enlaces fosfodiéster son 3′ → 5′.
- Para análogos sintéticos específicos de bases purina y pirimidina y sus derivados que han servido como fármacos anticáncer, indicar de qué maneras estos compuestos inhiben el metabolismo.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Además de servir como precursores de ácidos nucleicos, los nucleótidos purina y pirimidina participan en funciones metabólicas tan diversas como el metabolismo de energía, la síntesis de proteína, la regulación de la actividad enzimática, y la transducción de señal. Cuando se enlazan a vitaminas o derivados de vitaminas, los nucleótidos forman parte de muchas coenzimas. Como los principales donadores y receptores de grupos fosforilo en el metabolismo, los nucleósidos trifosfatos y difosfatos, como el ATP y ADP, son los principales elementos en las transducciones de energía que acompañan a las interconversiones

Purina Pirimidina

FIGURA 32–1 Purina y pirimidina. Los átomos están numerados de acuerdo con el sistema internacional.

FIGURA 32–2 Tautomerismo de los grupos funcionales oxo y amino de purinas y pirimidinas.

metabólicas y la fosforilación oxidativa. Enlazados a azúcares o lípidos, los nucleósidos constituyen intermediarios biosintéticos clave. Los derivados del azúcar UDP-glucosa y UDP-galactosa participan en interconversiones de azúcar y en la biosíntesis de almidón y glucógeno. De modo similar, los derivados nucleósido-lípido, como el CDP-acilglicerol, son intermediarios en la biosíntesis de lípidos. Las funciones de los nucleótidos en la regulación metabólica son fosforilación (dependiente de ATP) de enzimas metabólicas clave, regulación alostérica de enzimas por ATP, ADP, AMP y CTP, y control por el ADP del índice de fosforilación oxidativa. Los nucleótidos cíclicos cAMP y cGMP sirven como los segundos mensajeros en eventos regulados por hormonas, y el GTP y GDP desempeñan funciones clave en la cascada de eventos que caracterizan a las vías de transducción de señal. Las aplicaciones específicamente médicas son el uso de análogos de purina y pirimidina sintéticos que contienen halógenos, tioles, o átomos de nitrógeno adicionales en la quimioterapia de cáncer y SIDA, y como supresores de la respuesta inmunitaria durante trasplante de órganos.

PROPIEDADES QUÍMICAS DE LAS PURINAS, LAS PIRIMIDINAS, LOS NUCLEÓSIDOS Y LOS NUCLEÓTIDOS

Las purinas y pirimidinas son compuestos heterocíclicos

Las purinas y pirimidinas son **heterociclos** que contienen nitrógeno, estructuras cíclicas que contienen, además de carbono, otros (hetero) átomos, como nitrógeno. Note que la molécula de pirimidina de menor tamaño tiene el nombre *más largo*, y que la molécula de purina de mayor tamaño tiene el nombre *más corto*, y que sus anillos de seis átomos están numerados en direcciones opuestas (**figura 32-1**). Las purinas o pirimidinas con un grupo $-NH_2$ son bases débiles (valores de pK_a de 3 a 4), aunque el protón presente a pH bajo está asociado, no como podría esperarse con el grupo amino exocíclico, sino con un nitrógeno de anillo, típicamente N1 de adenina, N7 de guanina y N3 de citosina. La naturaleza planar de las purinas y las pirimidinas facilita su asociación estrecha, o "apilamiento", que estabiliza el DNA bicatenario (cap. 34). Los grupos oxo y amino de purinas y pirimidinas muestran **tautomerismo** ceto-enol y amina-imina (**figura 32-2**), aunque las condiciones fisiológicas favorecen fuertemente las formas amino y oxo.

Los nucleósidos son *N*-glucósidos

Los nucleó**sidos** son derivados de purinas y pirimidinas que tienen un azúcar enlazado a un nitrógeno de anillo de una purina o pirimidina. Los números con una prima (p. ej., 2′ o 3′) distinguen entre los átomos del azúcar y los del heterociclo. El azúcar en los **ribonucleósidos** es la D-ribosa, y en los **desoxirribonucleósidos** es la 2-desoxi-D-ribosa. Ambos azúcares están unidos al heterociclo por medio de un **enlace β-*N*-glucosídico**, casi siempre al *N*-1 de una pirimidina o al *N*-9 de una purina (**figura 32-3**).

Los nucleótidos son nucleósidos fosforilados

Los mononucleó**tidos** son nucleó**sidos** con un grupo fosforilo esterificado a un grupo hidroxilo del azúcar. Los nucleótidos 3′ y 5′ son nucleósidos con un grupo fosforilo en el grupo 3′- o 5′-hidroxilo del azúcar, respectivamente. Dado que casi todos los nucleótidos son 5′-, el prefijo "5′-" por lo general se omite cuando se les cita. Así, el UMP y el dAMP representan nucleótidos con un grupo fosforilo en el C-5 de la pentosa. Los grupos fosforilo adicionales, ligados por **enlaces anhídrido de ácido** al grupo fosforilo de un mononucleótido, forman **nucleósido difosfatos** y **trifosfatos** (**figura 32-4**).

Adenosina Citidina Guanosina Uridina

FIGURA 32–3 Ribonucleósidos, dibujados como los conformadores *sin*.

Adenosina 5′-monofosfato (AMP)

Adenosina 5′-difosfato (ADP)

Adenosina 5′-trifosfato (ATP)

FIGURA 32–4 **ATP, su difosfato y su monofosfato.**

Los *N*-glucósidos heterocíclicos existen como conformadores *sin* y *anti*

El obstáculo estérico por el heterociclo dicta que no hay libertad de rotación alrededor del enlace β-*N*-glucosídico de nucleósidos o nucleótidos. En consecuencia, ambos existen como **conformadores *sin* o *anti*** no interconvertibles (**figura 32-5**). Al contrario de los tautómeros, los conformadores *sin* y *anti* sólo se pueden interconvertir por división y reformación del enlace glucosídico. Los conformadores tanto *sin* como *anti* se encuentran en la naturaleza, pero predominan los conformadores *anti.*

El **cuadro 32-1** lista las principales purinas y pirimidinas, y sus derivados nucleósido y nucleótido. Se usan abreviaturas de una sola letra para identificar a la adenina (A), guanina (G), citosina (C), timina (T) y uracilo (U), sean libres o presentes en

Sin *Anti*

FIGURA 32–5 **Los conformadores *sin* y *anti* de la adenosina difieren respecto a la orientación alrededor del enlace *N*-glucosídico.**

CUADRO 32–1 **Bases purina, ribonucleósidos y ribonucleótidos**

Purina o pirimidina	X = H	X = ribosa	X = ribosa fosfato
	Adenina	Adenosina	Adenosina monofosfato (AMP)
	Guanina	Guanosina	Guanosina monofosfato (GMP)
	Citosina	Citidina	Citidina monofosfato (CMP)
	Uracilo	Uridina	Uridina monofosfato (UMP)
	Timina	Timidina	Timidina monofosfato (TMP)

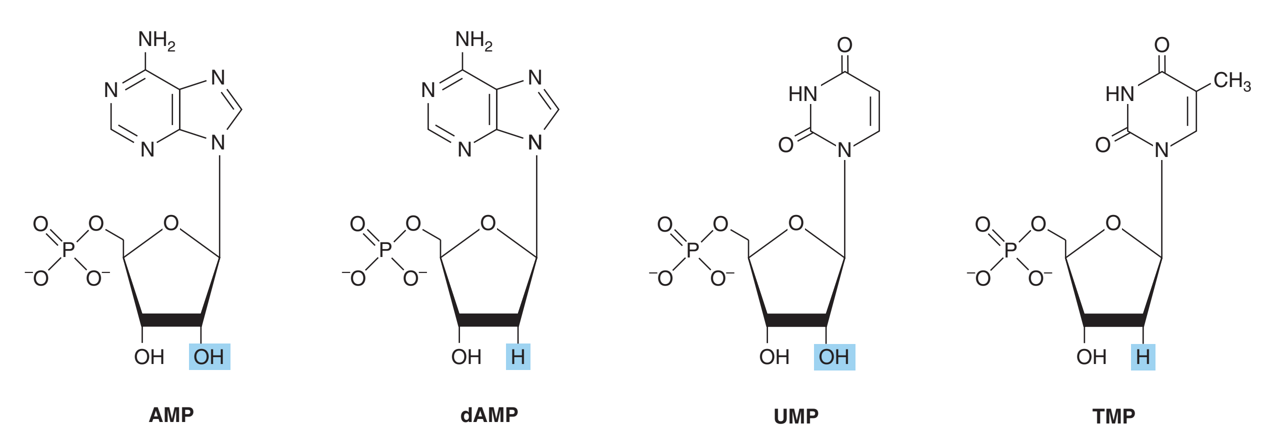


FIGURA 32–6 **Estructuras del AMP, dAMP, UMP y TMP.**

nucleósidos o nucleótidos. El prefijo “d” (desoxi) indica que el azúcar es 2′-desoxi-D-ribosa (p. ej., en el dATP) (**figura 32-6**).

La modificación de polinucleótidos puede generar estructuras adicionales

Pequeñas cantidades de purinas y pirimidinas adicionales se encuentran en el DNA y en los RNA. Los ejemplos incluyen 5-metilcitosina del DNA bacteriano y de seres humanos, 5-hidroximetilcitosina de ácidos nucleicos bacterianos y virales, y adenina y guanina mono- y di-*N*-metiladas de RNA mensajeros de mamífero (**figura 32-7**) que funcionan en el reconocimiento de oligonucleótido y en la regulación de la vida media de los RNA. Los nucleótidos libres comprenden hipoxantina, xantina y ácido úrico (**figura 32-8**) que son intermediarios en el catabolismo de la adenina y la guanina (cap. 33). Los heterociclos metilados de vegetales incluyen los derivados de xantina: cafeína del café, teofilina del té, y teobromina del cacao (**figura 32-9**).

Los nucleótidos son ácidos polifuncionales

Los grupos fosforilo primario y secundario de nucleósidos tienen valores de pK_a de alrededor de 1.0 y 6.2, respectivamente. Por consiguiente, los nucleótidos portan carga negativa importante a pH fisiológico. Los valores de pK_a en los grupos fosforilo secundarios son tales que pueden servir como donadores de protón y aceptores de protón a valores de pH de aproximadamente una o más unidades por arriba de la neutralidad o por debajo de la misma.

Los nucleótidos absorben luz ultravioleta

Los dobles enlaces conjugados de derivados de purina y pirimidina absorben luz ultravioleta. Si bien los espectros son dependientes del pH, a pH de 7.0 todos los nucleótidos comunes absorben luz a una longitud de onda cercana a 260 nm. De este modo, la concentración de nucleótidos y ácidos nucleicos suele

5-Metilcitocina

5-Hidroximetilcitocina

Dimetilaminoadenina

7-Metilguanina

FIGURA 32–7 **Cuatro pirimidinas y purinas poco comunes pero naturales.**

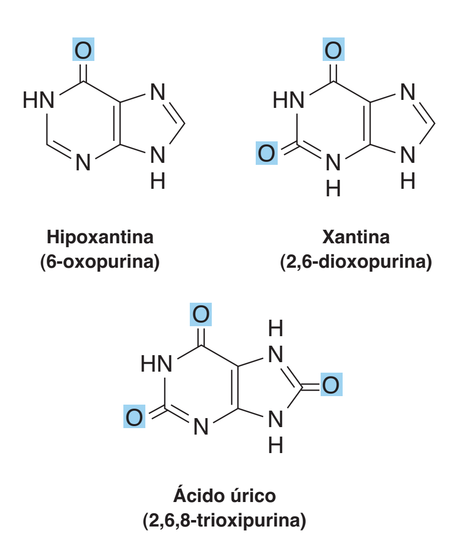


FIGURA 32–8 **Estructuras de la hipoxantina, xantina y ácido úrico, dibujadas como los tautómeros oxo.**

FIGURA 32–9 Cafeína, una trimetilxantina. Las dimetilxantinas teobromina y teofilina son similares, pero carecen del grupo metilo en *N*-1 y en *N*-7, respectivamente.

expresarse en términos de "absorbancia a 260 nm". El efecto mutagénico de la luz ultravioleta se debe a su absorción por nucleótidos en el DNA, que da lugar a modificaciones químicas (cap. 35).

Los nucleótidos desempeñan diversas funciones fisiológicas

Además de sus funciones como precursores de ácidos nucleicos, ATP, GTP, UTP, CTP y sus derivados, cada uno desempeña funciones fisiológicas singulares que se comentan en otros capítulos. Algunos ejemplos seleccionados incluyen la función del ATP como el principal transductor biológico de energía libre, y el segundo mensajero cAMP (**figura 32-10**). Las cifras intracelulares medias de ATP, el nucleótido libre más abundante en células de mamífero, son de aproximadamente 1 mmol/L. Puesto que se requiere poco cAMP, la concentración intracelular de cAMP (alrededor de 1 nmol/L) es seis órdenes de magnitud por debajo de la del ATP. Otros ejemplos son la adenosina 3′-fosfato-5′-fosfosulfato (**figura 32-11**), el donador de sulfato para proteoglucanos sulfatados (cap. 48) y para conjugados sulfato de fármacos, y el donador de grupo metilo *S*-adenosilmetionina (**figura 32-12**). El GTP sirve como un regulador alostérico y como una fuente de energía para la síntesis de proteína, y el cGMP (figura 32-10) sirve como un segundo mensajero en respuesta al óxido nítrico (NO) durante la relajación del músculo liso (cap. 49).

Los derivados UDP-azúcar participan en epimerizaciones de azúcar y en la biosíntesis de glucógeno (ver cap. 19), disacáridos glucosilo, y los oligosacáridos de glucoproteínas y proteoglucanos (caps. 47 y 48). El ácido UDP-glucurónico forma los conjugados glucurónido urinarios de la bilirrubina (cap. 31)

FIGURA 32–10 cAMP, AMP 3′,5′ cíclico, y cGMP, GMP 3′,5′ cíclico.

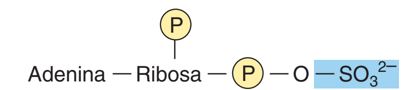


FIGURA 32–11 Adenosina 3′-fosfato-5′-fosfosulfato.

y de muchos medicamentos, incluso el ácido acetilsalicílico (aspirina). El CTP participa en la biosíntesis de fosfoglicéridos, esfingomielina, y otras esfingosinas sustituidas (cap. 24). Finalmente, muchas coenzimas incorporan nucleótidos, así como estructuras similares a nucleótidos purina y pirimidina (**cuadro 32-2**).

Los nucleósido trifosfatos tienen potencial alto de transferencia de grupo

Los nucleótido trifosfatos tienen dos enlaces anhídrido y un enlace éster. A diferencia de los ésteres, los anhídridos ácidos tienen un potencial alto de transferencia de grupo. El $\Delta G^{0\prime}$ para la hidrólisis de cada uno de los dos grupos fosforilo terminales (β y γ) de un nucleósido trifosfato es de alrededor de −7 kcal/mol (−30 kJ/mol). Este potencial alto de transferencia de grupo no sólo permite que los nucleósido trifosfatos purina y pirimidina funcionen como reactivos de transferencia de grupo, más comúnmente del grupo γ-fosforilo, sino también en ocasiones de transferencia de una porción nucleótido monofosfato con una liberación acompañante de PP_i. La división de un enlace anhídrido ácido típicamente está acoplada con un proceso altamente endergónico, como la síntesis de enlace covalente, por ejemplo, la polimerización de nucleósido trifosfatos para formar un ácido nucleico (cap. 34).

ANÁLOGOS DE NUCLEÓTIDO SINTÉTICOS SE USAN EN QUIMIOTERAPIA

Análogos sintéticos de purinas, pirimidinas, nucleósidos y nucleótidos modificados en el anillo heterocíclico o en la porción azúcar, tienen muchas aplicaciones en medicina clínica. Sus

Metionina Adenosina

FIGURA 32–12 *S*-Adenosilmetionina.

CUADRO 32–2 Muchas coenzimas y compuestos relacionados son derivados del adenosina monofosfato

Coenzima	R	R′	R″	n
Metionina activa	Metionina[1]	H	H	0
Aminoácido adenilatos	Aminoácido	H	H	1
Sulfato activo	SO_3^{2-}	H	PO_3^{2-}	1
AMP 3′,5′-cíclico		H	PO_3^{2-}	1
NAD[2]	Nicotinamida	H	H	2
NADP[2]	Nicotinamida	PO_3^{2-}	H	2
FAD	Riboflavina	H	H	2
Coenzima A	Pantotenato	H	PO_3^{2-}	2

[1] Reemplaza al grupo fosforilo.
[2] R es un derivado de la vitamina B.

efectos tóxicos reflejan inhibición de enzimas esenciales para la síntesis de ácido nucleico o su incorporación hacia ácidos nucleicos con alteración resultante de la formación de pares de bases. Los oncólogos emplean 5-fluorouracilo o 5-yodouracilo, 3-desoxiuridina, 6-tioguanina y 6-mercaptopurina, 5 o 6-azauridina, 5 o 6-azacitidina, y 8-azaguanina (**figura 32-13**), que se incorporan hacia el DNA antes de la división celular. El análogo de purina alopurinol, usado en el tratamiento de hiperuricemia y gota, inhibe la biosíntesis de purina y la actividad de la xantina oxidasa. La citarabina se usa en la quimioterapia de cáncer, y la azatioprina, que se cataboliza hacia 6-mercaptopurina, se emplea durante trasplante de órgano para suprimir el rechazo inmunitario (**figura 32-14**).

Los análogos de nucleósido trifosfato no hidrolizables sirven como instrumentos de investigación

Los análogos sintéticos, no hidrolizables, de nucleósido trifosfatos (**figura 32-15**) permiten a los investigadores distinguir entre los efectos de nucleótidos debidos a la transferencia de fosforilo y los efectos mediados por la ocupación de sitios de unión a nucleótido alostéricos sobre enzimas reguladas.

EL DNA Y RNA SON POLINUCLEÓTIDOS

El grupo 5′-fosforilo de un mononucleótido puede esterificar un segundo grupo hidroxilo, lo que forma un **fosfodiéster**. Con mayor frecuencia, este segundo grupo hidroxilo es el 3′-OH de la pentosa de un segundo nucleótido. Esto forma un **dinucleóti-**

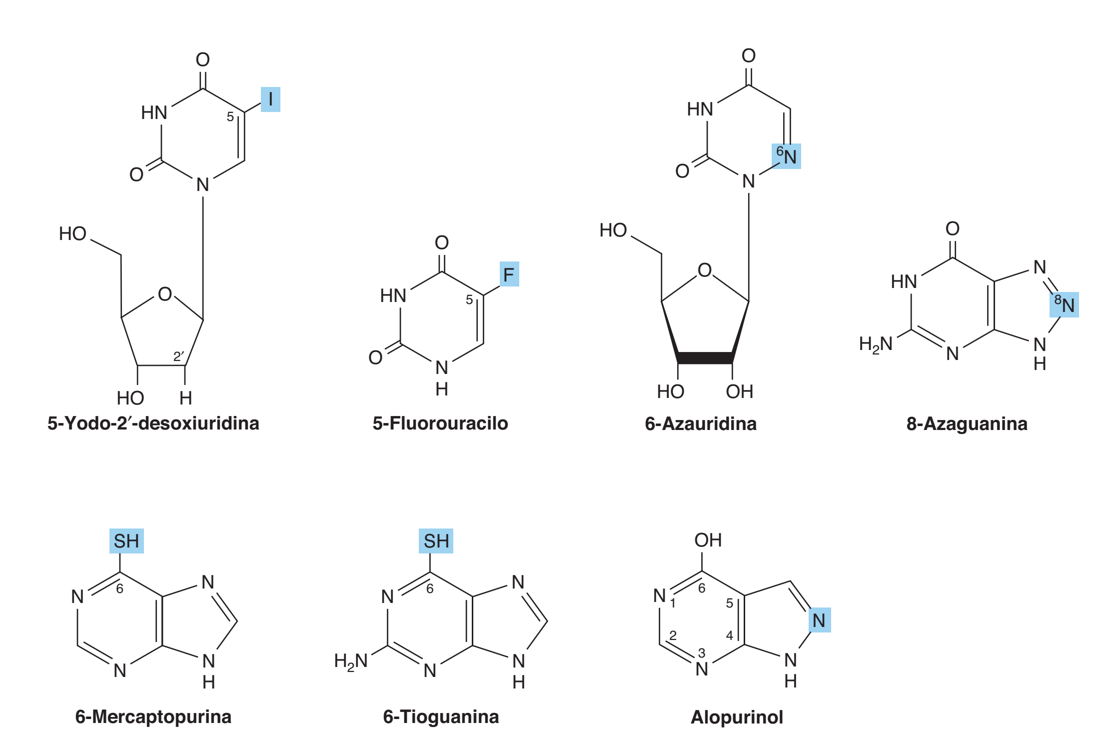


FIGURA 32–13 Análogos de pirimidina y purina sintéticos seleccionados.

Citarabina

Azatioprina

FIGURA 32–14 **Arabinosilcitosina (citarabina) y azatioprina.**

Nucleósido trifosfato madre

Derivado β,γ-metileno

Derivado β,γ-imino

FIGURA 32–15 **Derivados sintéticos de nucleósido trifosfatos incapaces de pasar por liberación hidrolítica del grupo fosforilo terminal.** (Pu/Py, una base purina o pirimidina; R, ribosa o desoxirribosa.) Se muestran el nucleósido trifosfato madre (hidrolizable) (*arriba*) y los derivados β-metileno (*centro*) y γ-imino (*abajo*) no hidrolizables.

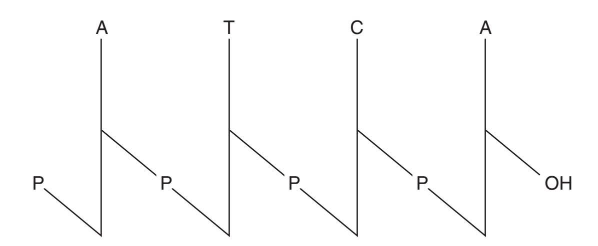
do en el cual las porciones pentosa están enlazadas mediante un enlace 3′,5′-fosfodiéster para formar el "esqueleto" del RNA y el DNA. La formación de un dinucleótido puede representarse como la eliminación de agua entre dos mononucleótidos. Sin embargo, la formación biológica de dinucleótidos no ocurre de esta manera porque la reacción inversa, la hidrólisis del enlace fosfodiéster, se favorece fuertemente desde el punto de vista termodinámico. Empero, a pesar de una ΔG en extremo favorable, en ausencia de catálisis por **fosfodiesterasas**, la hidrólisis de los enlaces fosfodiéster del DNA únicamente sucede al cabo de periodos prolongados. Por consiguiente, el DNA persiste durante lapsos considerables, y se ha detectado incluso en fósiles. Los RNA son mucho menos estables que el DNA porque el grupo 2′-hidroxilo del RNA (que no se encuentra en el DNA) funciona como un nucleófilo en el transcurso de la hidrólisis del enlace 3′,5′-fosfodiéster.

La modificación postraduccional de **polinucleótidos** preformados puede generar estructuras adicionales como **seudouridina**, un nucleósido en el cual una D-ribosa está enlazada a C-5 del uracilo por medio de un enlace entre un carbono y otro, en lugar de mediante el enlace β-*N*-glucosídico habitual. El nucleótido ácido seudouridílico (ψ) surge por reordenamiento de un UMP de un tRNA preformado. De modo similar, la metilación por *S*-adenosilmetionina de un UMP de tRNA preformado forma TMP (timidina monofosfato), que contiene ribosa más que desoxirribosa.

Los polinucleótidos son macromoléculas direccionales

Los enlaces fosfodiéster unen los carbonos 3′ y 5′ de monómeros adyacentes. De esta manera, cada extremo de un polímero de nucleótido es distinto; por tanto, se hace referencia al "extremo 5′" o el "extremo 3′" de un polinucleótido; el extremo 5′ es aquel con un 5′-hidroxilo libre o fosforilado.

La secuencia de bases o **estructura primaria** de un polinucleótido puede representarse como se muestra a continuación. El enlace de fosfodiéster se representa por P o p, las bases por medio de una letra única, y las pentosas mediante una línea vertical.



Cuando todos los enlaces fosfodiéster son 3′ → 5′, es posible una notación más compacta:

pGpGpApTpCpA

Esta representación indica que el 5′-hidroxilo —no así el 3′-hidroxilo— está fosforilado. La representación más compacta, por ejemplo GGATC, sólo muestra la secuencia de bases con el extremo 5′ a la izquierda y el extremo 3′ a la derecha. Se supone que los grupos fosforilo están presentes, pero no se muestran.

RESUMEN

- En condiciones fisiológicas, predominan los tautómeros amino y oxo de las purinas, pirimidinas y sus derivados.
- Los ácidos nucleicos contienen, además de A, G, C, T y U, trazas de 5-metilcitosina, 5-hidroximetilcitosina, seudouridina (ψ), y heterociclos *N*-metilados.

- Casi todos los nucleósidos contienen D-ribosa o 2-desoxi-D-ribosa enlazada a *N*-1 de una pirimidina o a *N*-9 de una purina por medio de un enlace β-glucosídico cuyos conformadores *sin* predominan.
- Un número con una prima ubica la posición del fosfato en los azúcares de mononucleótidos (p. ej., 3′-GMP, 5′-dCMP). Grupos fosforilo adicionales enlazados al primero mediante enlaces anhídrido de ácido forman nucleósido difosfatos y trifosfatos.
- Los nucleósido trifosfatos tienen alto potencial de transferencia de grupo, y participan en síntesis de enlaces covalentes. Los fosfodiésteres cíclicos cAMP y cGMP funcionan como segundos mensajeros intracelulares.
- Los mononucleótidos unidos por enlaces 3′ → 5′-fosfodiéster forman polinucleótidos, macromoléculas direccionales con extremos 3′ y 5′ distintos. Para pTpGpT o TGCATCA, el extremo 5′ está a la izquierda, y todos los enlaces fosfodiéster son 3′ → 5′.
- Los análogos sintéticos de bases purina y pirimidina y sus derivados sirven como fármacos anticáncer, sea al inhibir una enzima de la biosíntesis de nucleótido o al incorporarse en el DNA o el RNA.

REFERENCIAS

Adams RLP, Knowler JT, Leader DP: *The Biochemistry of the Nucleic Acids,* 11th ed. Chapman & Hall, 1992.

Blackburn GM, Gait MJ: *Nucleic Acids in Chemistry & Biology.* IRL Press, 1990.

Pacher P, Nivorozhkin A, Szabo C: Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol. Pharmacol Rev 2006;58:87.

CAPÍTULO

33

Metabolismo de nucleótidos purina y pirimidina

Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Comparar y contrastar las funciones de ácidos nucleicos en la dieta, y de la biosíntesis *de novo*, en la producción de purinas y pirimidinas destinadas para la biosíntesis de polinucleótido.
- Explicar por qué los fármacos antifolato y análogos del aminoácido glutamina inhiben la biosíntesis de purina.
- Esbozar la secuencia de reacciones que convierten el IMP, primero en AMP y GMP, y después en sus nucleósido trifosfatos correspondientes.
- Describir la formación de desoxirribonucleótidos (dNTP) a partir de ribonucleótidos.
- Indicar la función reguladora del PRPP en la biosíntesis de purina hepática, y la reacción específica de la biosíntesis de purina hepática que es inhibida por retroacción por AMP y por GMP.
- Manifestar la importancia del control coordinado de la biosíntesis de nucleótido purina y pirimidina.
- Identificar reacciones que son inhibidas por fármacos anticáncer.
- Escribir la estructura del producto terminal del catabolismo de la purina. Comentar su solubilidad e indicar su participación en la gota, el síndrome de Lesch-Nyhan, y la enfermedad de von Gierke.
- Identificar reacciones cuyo deterioro lleva a signos y síntomas patológicos modificados.
- Indicar por qué hay pocos trastornos del catabolismo de la purina importantes en clínica.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Aun cuando los seres humanos consumen una dieta con alto contenido de nucleoproteínas, las purinas y pirimidinas de la dieta no se incorporan de modo directo hacia los ácidos nucleicos de tejidos. Los seres humanos sintetizan ácidos nucleicos, ATP, NAD^+, coenzima A, etc., a partir de intermediarios anfibólicos. Sin embargo, los análogos de purina o pirimidina *inyectados,* entre ellos fármacos anticáncer potenciales, pueden incorporarse hacia el DNA. La biosíntesis de purina y pirimidina ribonucleótido trifosfatos (NTP) y dNTP son eventos regulados con exactitud. Los mecanismos de retroacción coordinados aseguran su producción en cantidades apropiadas, y en momentos que se ajustan a demanda fisiológica variable (p. ej., división celular). Las enfermedades de seres humanos que incluyen anormalidades del metabolismo de la purina son gota, síndrome de Lesch-Nyhan, deficiencia de adenosina desaminasa, y deficiencia de nucleósido purina fosforilasa. Las enfermedades de la biosíntesis de las pirimidinas son más raras, pero comprenden acidurias oróticas. A diferencia de la baja solubilidad del ácido úrico formado por catabolismo de las purinas, los productos terminales del catabolismo de pirimidina (dióxido de carbono, amoniaco, β-alanina y γ-aminoisobutirato) son muy hidrosolubles. Un trastorno genético del catabolismo de la pirimidina es la aciduria β-hidroxibutírica, debida a deficiencia total o parcial de la enzima dihidropirimidina deshidrogenasa. Este trastorno

del catabolismo de pirimidina, también conocido como uraciluria-timinuria combinada, también es un trastorno de la biosíntesis de β-aminoácidos, dado que la formación de β-alanina y β-aminoisobutirato está alterada. Una forma no genética puede desencadenarse por la administración del medicamento anticáncer 5-fluorouracilo a pacientes que tienen concentraciones bajas de dihidropirimidina deshidrogenasa.

LAS PURINAS Y PIRIMIDINAS SON NO ESENCIALES EN LA DIETA

Los tejidos normales del ser humano pueden sintetizar purinas y pirimidinas a partir de intermediarios anfibólicos, en cantidades y en momentos apropiados para satisfacer demanda fisiológica variable; por consiguiente, los ácidos nucleicos y los nucleótidos ingeridos son no esenciales en la dieta. Después de su degradación en el tracto intestinal, los mononucleótidos resultantes pueden ser absorbidos o convertidos en bases purina y pirimidina. A continuación, las bases purina son oxidadas hacia ácido úrico, que se puede absorber, y excretar en la orina. Si bien poca o ninguna purina o pirimidina de la dieta se incorpora hacia ácidos nucleicos en los tejidos, los compuestos inyectados se incorporan. Así, la incorporación de [^{3}H] timidina inyectada hacia DNA recién sintetizado puede usarse para medir la tasa de síntesis de DNA.

BIOSÍNTESIS DE NUCLEÓTIDOS PURINA

Con la excepción de protozoarios parásitos, todas las formas de vida sintetizan nucleótidos purina y pirimidina. La síntesis a partir de intermediarios anfibólicos procede a índices controlados apropiados para todas las funciones celulares. Con el fin de lograr homeostasis, mecanismos intracelulares detectan y regulan el tamaño del fondo común de nucleótido trifosfatos (NTP), que aumenta durante el crecimiento, o la regeneración de tejido, cuando las células se están dividiendo con rapidez.

Los nucleótidos purina y pirimidina se sintetizan *in vivo* a índices congruentes con la necesidad fisiológica. En las investigaciones tempranas de biosíntesis de nucleótido se emplearon

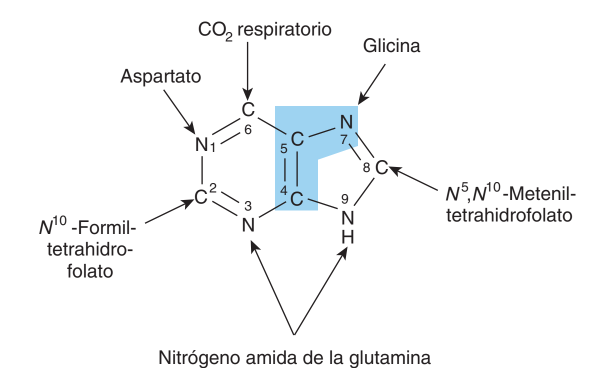


FIGURA 33–1 Fuentes de los átomos de nitrógeno y carbono del anillo de purina. Los átomos 4, 5 y 7 **(resaltados en azul)** se derivan de la glicina.

primero aves, y más tarde *Escherichia coli*. Precursores isotópicos de ácido úrico suministrados como alimento a palomas establecieron la fuente de cada átomo de una purina (**figura 33-1**) e iniciaron el estudio de los intermediarios de la biosíntesis de purina. Tejidos de aves sirvieron como una fuente de genes clonados que codifican para enzimas de la biosíntesis de purina y las proteínas reguladoras que controlan el índice de biosíntesis de purina.

Los tres procesos que contribuyen a la biosíntesis de nucleótido purina son, en orden de importancia decreciente:

1. Síntesis a partir de intermediarios anfibólicos (síntesis *de novo*).
2. Fosforribosilación de purinas.
3. Fosforilación de nucleósidos purina.

LA INOSINA MONOFOSFATO (IMP) SE SINTETIZA A PARTIR DE INTERMEDIARIOS ANFIBÓLICOS

La **figura 33-2** ilustra los intermediarios y las 11 reacciones catalizadas por enzima que convierten a la α-D-ribosa 5-fosfato en inosina monofosfato (IMP). Además de ser el primer intermediario formado en la vía *de novo* para la biosíntesis de purina, el 5-fosforribosil 5-pirofosfato (PRPP, estructura II, figura 33-2) es un intermediario en la biosíntesis de nucleótidos pirimidina, NAD^+ y $NADP^+$. A continuación, ramas separadas conducen de IMP a AMP y GMP (**figura 33-3**). La transferencia subsiguiente de fosforilo desde ATP convierte el AMP y el GMP en ADP y GDP. La conversión de GDP en GTP incluye una segunda transferencia de fosforilo desde el ATP, mientras que la conversión de ADP en ATP se logra principalmente mediante fosforilación oxidativa (cap. 13).

Catalíticos multifuncionales participan en la biosíntesis de nucleótido purina

En procariotas, un polipéptido diferente cataliza cada reacción de la figura 33-2. En contraste, en eucariotas las enzimas son polipéptidos con múltiples actividades catalíticas, cuyos sitios catalíticos adyacentes facilitan la canalización de intermediarios entre sitios. Tres enzimas multifuncionales catalizan las reacciones ③, ④, y ⑥; las reacciones ⑦ y ⑧, y las reacciones ⑩ y ⑪, de la figura 33-2.

Fármacos antifolato o análogos de glutamina bloquean la biosíntesis de nucleótido purina

Derivados del tetrahidrofolato contribuyen con los carbonos añadidos en las reacciones ④ y ⑩ de la figura 33-2. Los estados de deficiencia de purina, aunque son raros en seres humanos, por lo general reflejan una deficiencia de ácido fólico. En la quimioterapia de cáncer se han usado compuestos que inhiben la formación de tetrahidrofolatos y que, por ende, bloquean la síntesis de purina. Los compuestos inhibidores y las reacciones que inhiben comprenden **azaserina** (reacción ⑤, figura 33-2),

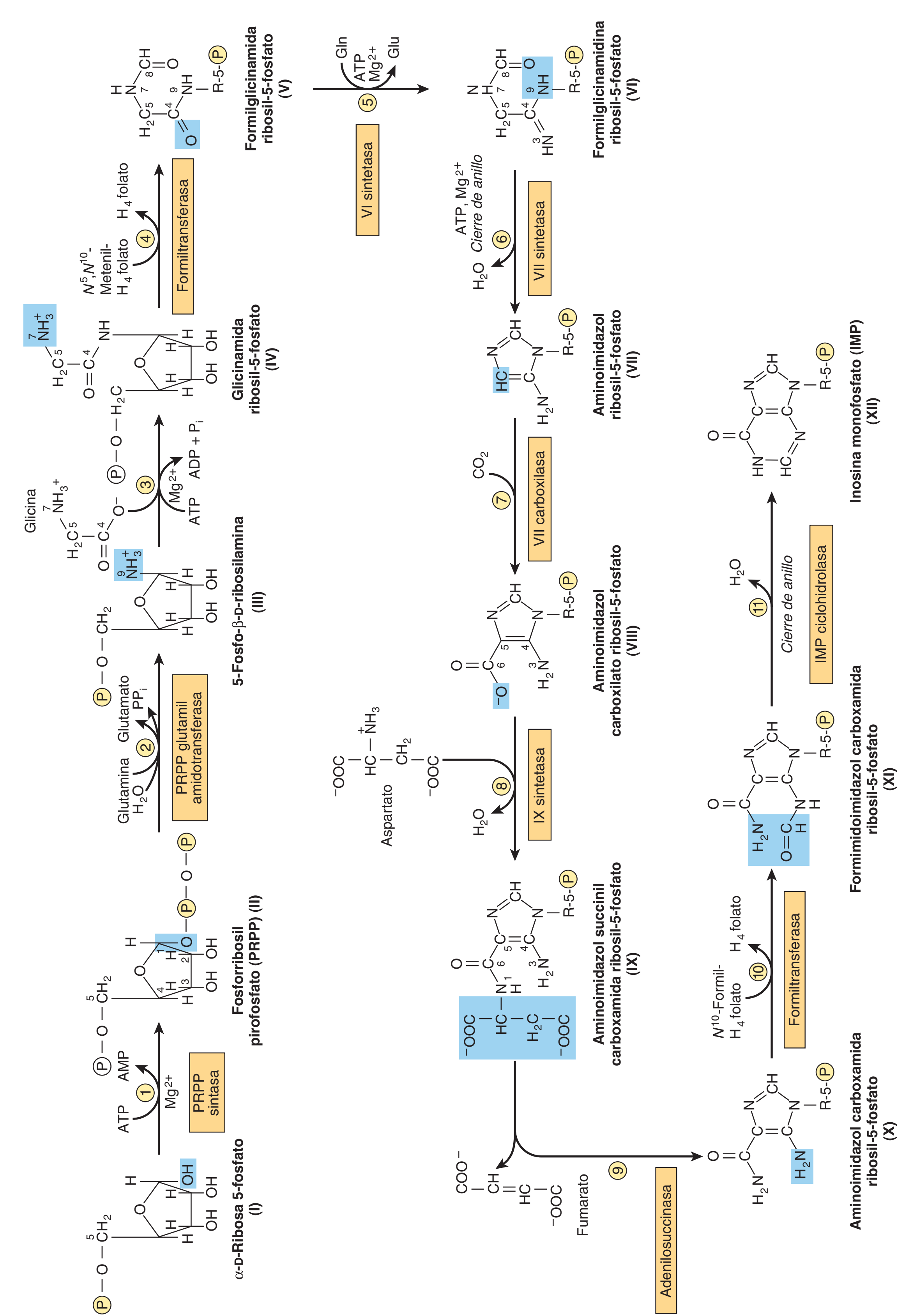


FIGURA 33–2 Biosíntesis de purina a partir de la ribosa 5-fosfato y ATP. Considere las explicaciones en el texto. (P), PO_3^{2-} o PO_2^{-}.

FIGURA 33–3 **Conversión de IMP en AMP y GMP.**

diazanorleucina (reacción ②, figura 33-2), **6-mercaptopurina** (reacciones ⑬ y ⑭, figura 33-3), y **ácido micofenólico** (reacción ⑭, figura 33-3).

LAS "REACCIONES DE RECUPERACIÓN" CONVIERTEN PURINAS Y SUS NUCLEÓSIDOS EN MONONUCLEÓTIDOS

La conversión de purinas, sus ribonucleó**sidos**, y sus desoxirribonucleó**sidos** en mononucleó**tidos** incluye "reacciones de recuperación" que requieren mucha menos energía que la síntesis *de novo.* El mecanismo más importante comprende fosforribosilación por PRPP (estructura II, figura 33-2) de una purina (Pu) libre para formar una purina 5′-mononucleótido (Pu-RP).

$$\text{Pu} + \text{PR-PP} \rightarrow \text{Pu-RP} + \text{PP}_i$$

La transferencia de fosforilo desde ATP, catalizada por la adenosina e hipoxantina-fosforribosil transferasas, convierte a la adenina, hipoxantina y guanina en sus mononucleótidos (**figura 33-4**).

Un segundo mecanismo de recuperación incluye la transferencia de fosforilo desde ATP hacia una purina ribonucleó**sido** (Pu-R):

$$\text{Pu-R} + \text{ATP} \rightarrow \text{PuR-P} + \text{ADP}$$

La fosforilación de los nucleótidos purina, catalizada por la adenosina cinasa, convierte la adenosina y la desoxiadenosina en AMP y dAMP. De manera similar, la desoxicitidina cinasa fosforila a la desoxicitidina y a la 2′-desoxiguanosina, lo que forma dCMP y dGMP.

El hígado, el principal sitio de biosíntesis de nucleótido purina, proporciona purinas y nucleósidos purina para recuperación y para utilización por tejidos incapaces de su biosíntesis. El tejido del cerebro de seres humanos tiene cifras bajas de PRPP glutamil amidotransferasa (reacción ②, figura 33-2) y, por consiguiente, depende en parte de purinas exógenas. Los eritrocitos y los leucocitos polimorfonucleares no pueden sintetizar 5-fosforribosilamina (estructura III, figura 33-2) y, por tanto, utilizan purinas exógenas para formar nucleótidos.

LA BIOSÍNTESIS HEPÁTICA DE PURINA SE ENCUENTRA ESTRECHAMENTE REGULADA

La retroacción por AMP y GMP regula la PRPP glutamil aminotransferasa

La biosíntesis de IMP es costosa desde el punto de vista energético. Además de ATP, se consumen glicina, glutamina, aspartato y derivados de tetrahidrofolato reducidos. Así, la regulación estrecha de la biosíntesis de purina en respuesta a necesidad fisiológica variable es una ventaja en cuanto a supervivencia. El determinante general de la tasa de biosíntesis de purina nucleótido *de novo* es la concentración de PRPP; ésta depende de la tasa de síntesis, utilización, degradación y regulación de PRPP. La tasa de síntesis de PRPP depende de la disponibilidad de

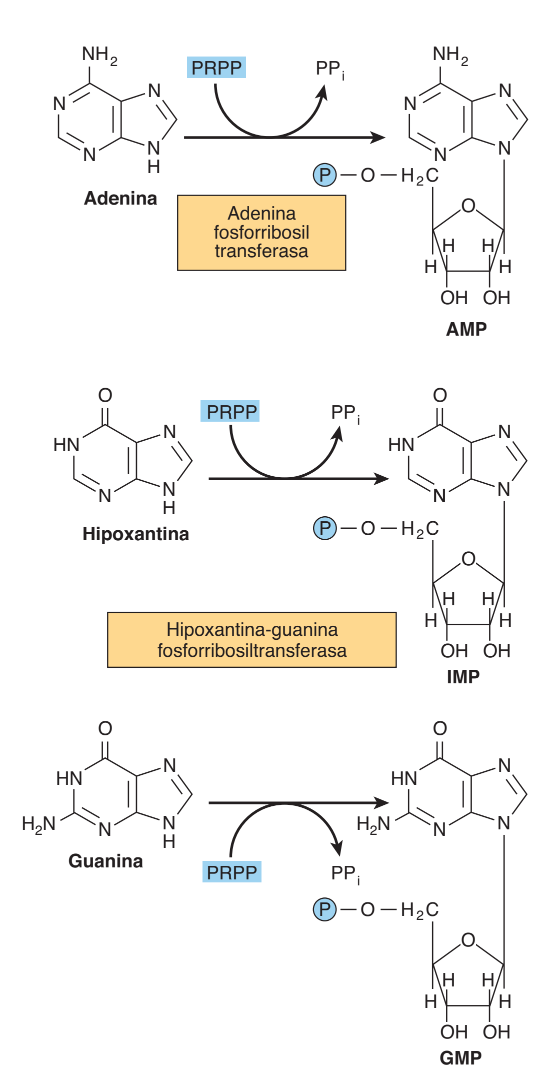


FIGURA 33–4 Fosforribosilación de adenina, hipoxantina y guanina para formar AMP, IMP y GMP, respectivamente.

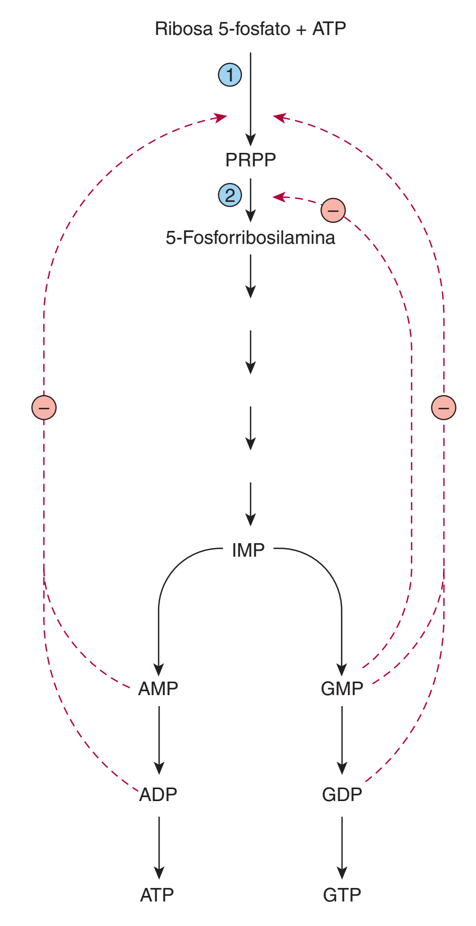


FIGURA 33–5 Control del índice de la biosíntesis *de novo* de nucleótido purina. Las reacciones ① y ② son catalizadas por la PRPP sintasa y por la PRPP glutamil amidotransferasa, respectivamente. Las líneas continuas representan el flujo químico. Las líneas de color rojo discontinuas representan inhibición por retroacción por intermediarios de la vía.

ribosa 5-fosfato y de la actividad de la reacción de la PRPP sintasa (reacción ②, **figura 33-5**), una enzima cuya actividad es inhibida por retroacción por AMP, ADP, GMP y GDP. De este modo, la concentración alta de estos nucleósido fosfatos es una señal para un decremento general, fisiológicamente apropiado, de su biosíntesis.

La retroacción por AMP y GMP regula su formación a partir de IMP

Además de regulación en el ámbito de la biosíntesis de PRPP, otros mecanismos regulan la conversión de IMP en ATP y GTP; éstos se resumen en la **figura 33-6**. La retroacción por AMP inhibe la adenilosuccinato sintasa (reacción ⑫, figura 33-3), y el GMP inhibe la IMP deshidrogenasa (reacción ⑭, figura 33-3). Además, la conversión de IMP en adenilosuccinato en ruta al AMP (reacción ⑫, figura 33-3) requiere GTP, y la conversión de xantinilato (XMP) en GMP requiere ATP. Así, esta regulación cruzada entre las vías de metabolismo de IMP sirve para equili-

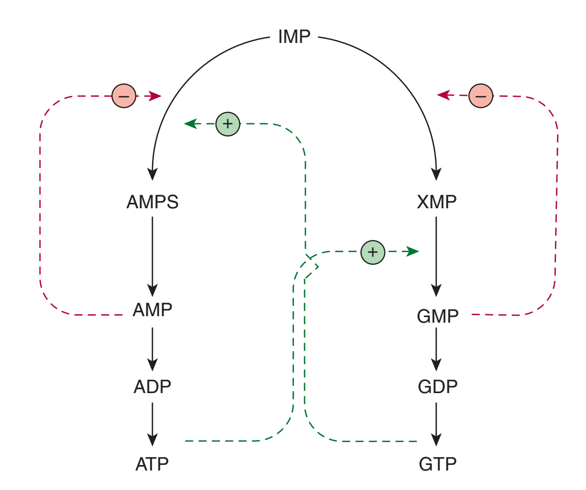


FIGURA 33–6 Regulación de la conversión de IMP en nucleótidos adenosina y nucleótidos guanosina. Las líneas continuas representan el flujo químico. Las líneas de color verde discontinuas representan asas de retroacción positiva ⊕, y las líneas de color rojo discontinuas representan asas de retroacción negativa ⊖. Las abreviaturas son AMPS (adenilosuccinato) y XMP (xantosina monofosfato), cuyas estructuras se presentan en la figura 33-3.

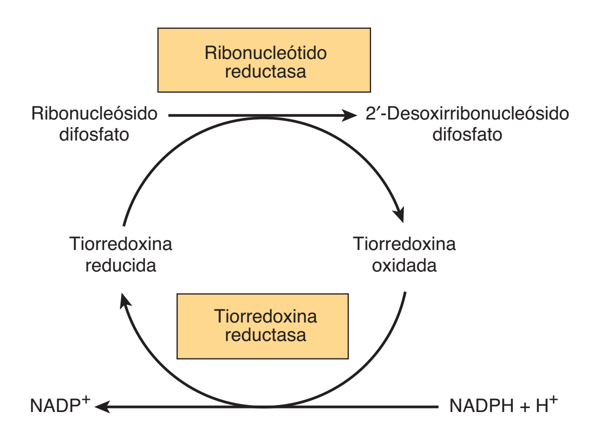


FIGURA 33–7 Reducción de ribonucleósido difosfatos hacia 2′-desoxirribonucleósido difosfatos.

brar la biosíntesis de purina nucleósido trifosfatos al disminuir la síntesis de un nucleótido purina cuando hay deficiencia del otro nucleótido. El AMP y GMP también inhiben a la hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa, que convierte a la hipoxantina y la guanina en IMP y GMP (figura 33-4), y el GMP inhibe por retroacción a la PRPP glutamil amidotransferasa (reacción ②, figura 33-2).

LA REDUCCIÓN DE RIBONUCLEÓSIDO DIFOSFATOS FORMA DESOXIRRIBONUCLEÓSIDO DIFOSFATOS

La reducción del 2′-hidroxilo de purina y pirimidina ribonucleótidos, catalizada por el **complejo de ribonucleótido reductasa** (**figura 33-7**), proporciona los desoxirribonucleósido difosfatos (dNDP) necesarios tanto para la síntesis de DNA como para la reparación del mismo (cap. 35). El complejo enzimático sólo es funcional cuando las células están sintetizando de modo activo DNA. La reducción necesita tiorredoxina, tiorredoxina reductasa y NADPH. El reductor inmediato, tiorredoxina reducida, se produce por la NADPH:tiorredoxina reductasa (figura 33-7). La reducción de ribonucleósido difosfatos (NDP) hacia dNDP está sujeta a controles reguladores complejos que logran producción equilibrada de dNTP para la síntesis de DNA (**figura 33-8**).

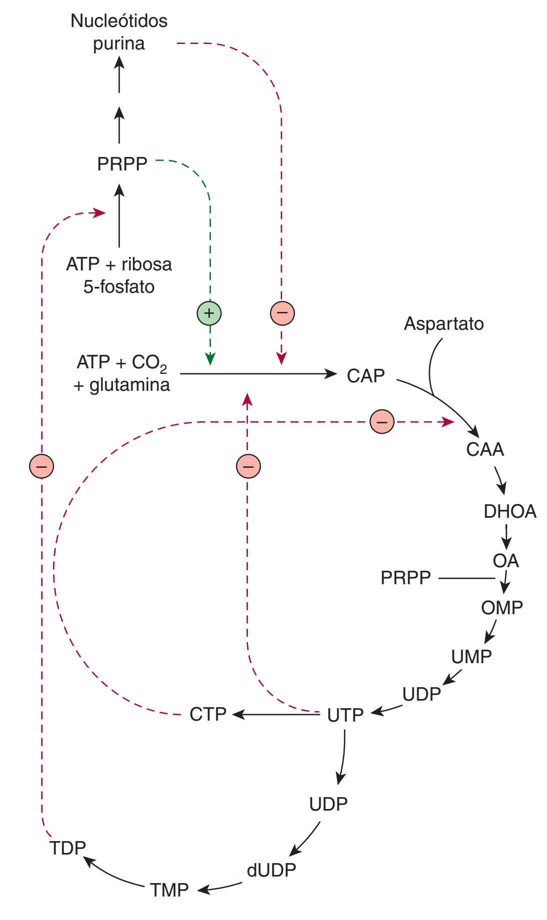


FIGURA 33–8 Aspectos reguladores de la biosíntesis de purina y pirimidina ribonucleótidos, y reducción a sus 2′-desoxirribonucleótidos respectivos. La línea de color verde discontinua representa un asa de retroacción positiva. Las líneas de color rojo discontinuas representan asas de retroacción negativa. Las abreviaturas para los intermediarios en la biosíntesis de pirimidina nucleótidos cuya estructura se proporciona en la figura 33-9 son: (CAA, carbamoil aspartato; DHOA, dihidroorotato; OA, ácido orótico; OMP, orotidina monofosfato, y PRPP, fosforribosil pirofosfato).

BIOSÍNTESIS DE NUCLEÓTIDOS PIRIMIDINA

La **figura 33-9** ilustra los intermediarios y las enzimas de la biosíntesis de nucleótido pirimidina. El catalítico para la reacción inicial es la carbamoil fosfato sintasa II *citosólica*, una enzima diferente de la carbamoil fosfato sintasa I *mitocondrial* de la síntesis de la urea (figura 28-13). De esta manera, la compartamentalización proporciona un fondo común independiente de carbamoil fosfato para cada proceso. El PRPP, un participante temprano de la síntesis de nucleótido purina (figura 33-2), es un participante mucho más tardío en la biosíntesis de pirimidina. La inspección de los componentes de la reacción en la figura 33-9 revelará que, al igual que la biosíntesis de pirimidinas, la biosíntesis de los nucleósidos purina es costosa desde el punto de vista energético.

Proteínas multifuncionales catalizan las reacciones tempranas de la biosíntesis de pirimidina

Cinco de las primeras seis actividades enzimáticas de la biosíntesis de pirimidina residen en **polipéptidos multifuncionales**. Un polipéptido cataliza las primeras tres reacciones en la figura 33-9. Una segunda enzima bifuncional cataliza las reacciones ⑤ y ⑥ de la figura 33-9. La estrecha proximidad de múltiples sitios activos en un polipéptido multifuncional facilita la canalización eficiente de los intermediarios de la biosíntesis de pirimidina.

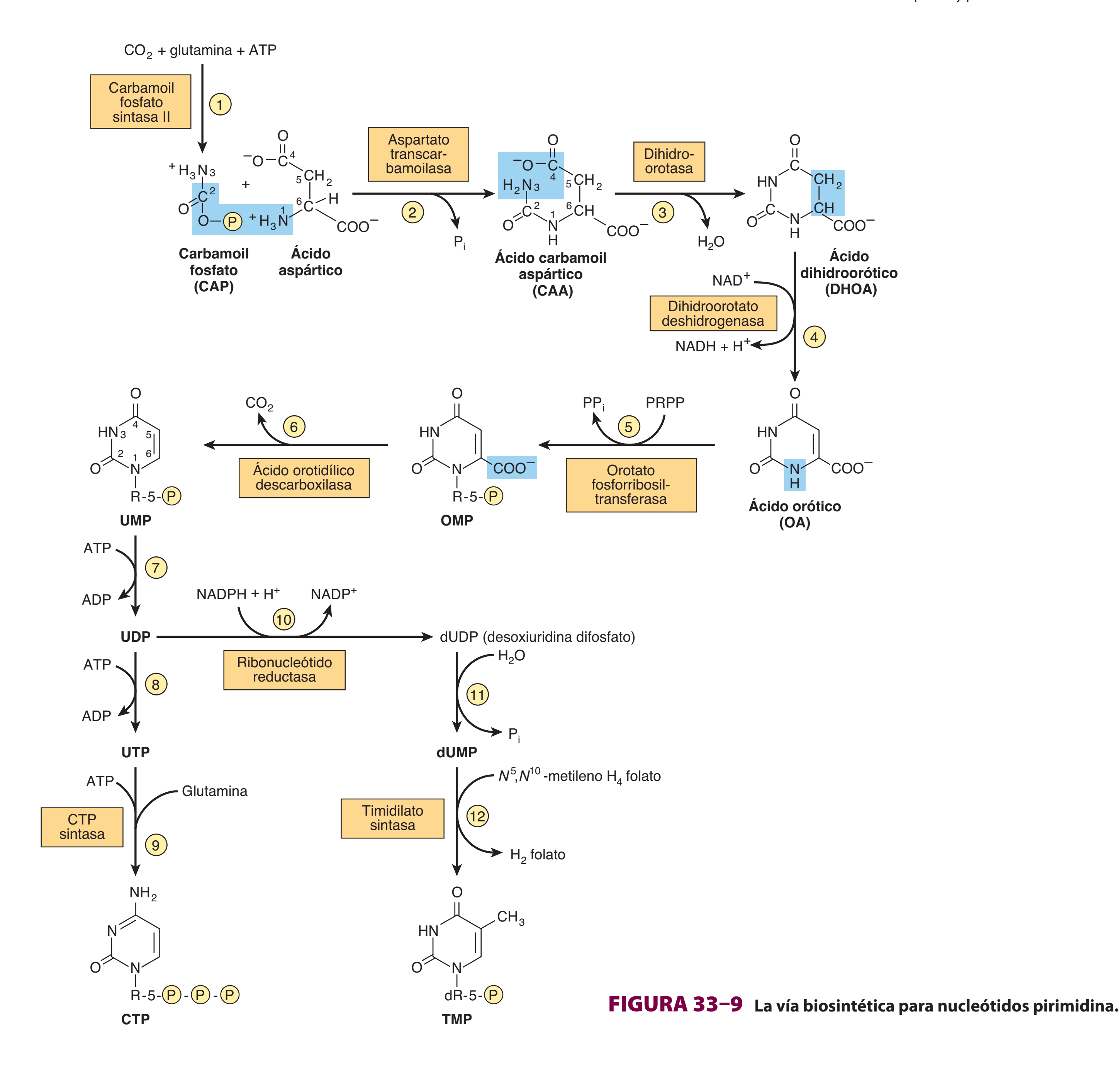


FIGURA 33–9 **La vía biosintética para nucleótidos pirimidina.**

LOS DESOXIRRIBONUCLEÓSIDOS DE URACILO Y CITOSINA SON SALVADOS

La adenina, guanina e hipoxantina liberadas durante el recambio de ácidos nucleicos, en especial RNA mensajeros, son reconvertidas en nucleósido trifosfatos por medio de las llamadas vías de salvamento. Mientras que las células de mamífero reutilizan pocas pirimidinas *libres*, las "reacciones de recuperación" convierten los pirimidina ribonucleósidos uridina y citidina, y los pirimidina desoxirribonucleósidos timidina y desoxicitidina hacia sus nucleótidos respectivos.

$$\text{Guanina} + \text{PRPP} \rightarrow \text{GMP} + PP_i$$

$$\text{Hipoxantina} + \text{PRPP} \rightarrow \text{IMP} + PP_i$$

Las fosforribosiltransferasas (cinasas) catalizan la transferencia del grupo γ-fosforilo de ATP hacia los difosfatos de la 2′-desoxicitidina, 2′-desoxiguanosina y 2′-desoxiadenosina, convirtiéndolos en sus nucleósido trifosfatos correspondientes.

$$\text{NDP} + \text{ATP} \rightarrow \text{NTP} + \text{ADP}$$

$$\text{dNDP} + \text{ATP} \rightarrow \text{dNTP} + \text{ADP}$$

El metotrexato bloquea la reducción de dihidrofolato

La reacción catalizada por la timidilato sintasa (reacción ⑫ de la figura 33-9) es la única reacción de la biosíntesis de nucleótido pirimidina que requiere un derivado de tetrahidrofolato. Durante esta reacción el grupo metileno del N^5,N^{10}-metileno-

tetrahidrofolato es reducido al grupo metilo que es transferido a la posición 5 del anillo de pirimidina, y el tetrahidrofolato es oxidado hacia dihidrofolato. Para que ocurra más síntesis de pirimidina, el dihidrofolato debe ser reducido de regreso a tetrahidrofolato. Esta reducción, catalizada por la dihidrofolato reductasa, es inhibida por el **metotrexato**. Así, las células en división, que deben generar TMP y dihidrofolato, son en especial sensibles a inhibidores de la dihidrofolato reductasa, como el fármaco anticáncer metotrexato.

Ciertos análogos de pirimidina son sustratos para enzimas de la biosíntesis de nucleótido pirimidina

El **alopurinol** y el fármaco anticáncer **5-fluorouracilo** (figura 32-13) son sustratos alternos para la orotato fosforribosiltransferasa (reacción ⑤, figura 33-9). Ambos fármacos son fosforribosilados, y el alopurinol es convertido en un nucleótido en el cual el ribosil fosfato está fijo a *N*-1 del anillo de pirimidina.

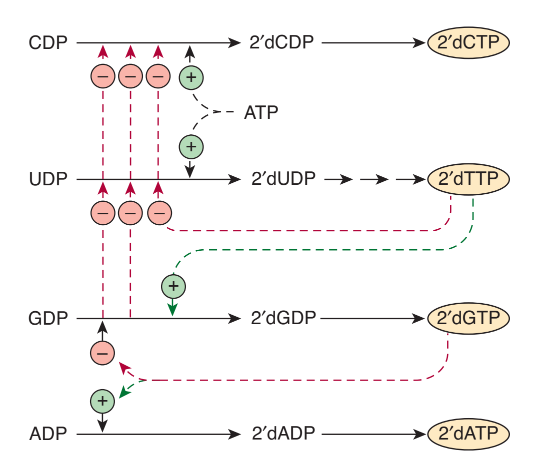


FIGURA 33–10 Control de la biosíntesis de nucleótido pirimidina. Las líneas continuas representan el flujo químico. Las líneas discontinuas de color verde representan regulación por retroacción positiva ⊕, y las de color rojo, retroacción negativa ⊖.

REGULACIÓN DE LA BIOSÍNTESIS DE NUCLEÓTIDO PIRIMIDINA

La expresión de gen y la actividad enzimática están reguladas

Las actividades de la primera y segunda enzimas de la biosíntesis de nucleótido pirimidina están controladas por medio de regulación alostérica. La carbamoil fosfato sintasa II (reacción ①, figura 33-9) es inhibida por UTP y nucleótidos purina, pero activada por el PRPP. La aspartato transcarbamoilasa (reacción ②, figura 33-9) es inhibida por CTP, pero activada por ATP (**figura 33-10**). Además, las primeras tres y las últimas dos enzimas de la vía están reguladas por represión y desrepresión coordinadas.

Las biosíntesis de nucleótido purina y pirimidina están reguladas de modo coordinado

Las biosíntesis de purina y pirimidina corren parejas una con otra cuantitativamente, esto es, mol por mol, lo que sugiere control coordinado de su biosíntesis. Varios sitios de *regulación cruzada* caracterizan las vías que conducen a la biosíntesis de nucleótidos purina y pirimidina. La PRPP sintasa (reacción ①, figura 33-2), que forma un precursor esencial para ambos procesos, es inhibida por retroacción por los nucleótidos purina y pirimidina.

LOS SERES HUMANOS CATABOLIZAN LAS PURINAS HACIA ÁCIDO ÚRICO

Los humanos convierten la adenosina y guanosina en ácido úrico (**figura 33-11**). La adenosina desaminasa convierte primero la adenosina en inosina. En mamíferos que no son los primates superiores, la uricasa convierte el ácido úrico en el producto hidrosoluble alantoína. Empero, dado que los seres humanos carecen de uricasa, en ellos el producto terminal del catabolismo de la purina es el ácido úrico.

LA GOTA ES UN TRASTORNO METABÓLICO DEL CATABOLISMO DE LA PURINA

Diversos defectos genéticos de la PRPP sintasa (reacción ①, figura 33-2) se presentan en clínica como gota. Cada defecto —p. ej., una $V_{máx}$ alta, afinidad incrementada por la ribosa 5-fosfato, o resistencia a inhibición por retroacción— da por resultado producción y excreción excesivas de catabolitos de purina. Cuando las cifras séricas de urato exceden el límite de solubilidad, el urato de sodio se cristaliza en los tejidos blandos y las articulaciones, y origina una reacción inflamatoria, la **artritis gotosa**. Con todo, la mayor parte de los casos de gota reflejan anormalidades de la manipulación renal de ácido úrico.

OTROS TRASTORNOS DEL CATABOLISMO DE PURINA

Aun cuando los estados de deficiencia de purina son raros en seres humanos, hay muchos trastornos genéticos del catabolismo de purina. Las **hiperuricemias** pueden diferenciarse con base en si los enfermos excretan cantidades normales o excesivas de uratos totales. Algunas hiperuricemias reflejan defectos enzimáticos específicos. Otras son consecutivas a enfermedades como cáncer o psoriasis que aumentan el recambio de tejido.

Síndrome de Lesch-Nyhan

Es una hiperuricemia por producción excesiva, que se caracteriza por episodios frecuentes de litiasis por ácido úrico, y un síndrome raro de automutilación, que refleja un defecto de la **hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa**, una enzima de

FIGURA 33–11 Formación de ácido úrico a partir de nucleósidos purina por la vía de las bases purina hipoxantina, xantina y guanina. Los purina desoxirribonucleósidos son degradados por la misma vía catabólica y por las mismas enzimas, todas las cuales existen en la mucosa del tubo digestivo de mamíferos.

la recuperación de purina (figura 33-4). El incremento acompañante del PRPP intracelular causa producción excesiva de purina. Las mutaciones que aminoran o suprimen la actividad de la hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa son deleciones, mutaciones por cambio de marco (también conocida como mutación del marco de lectura), sustituciones de bases y empalme aberrante de mRNA.

Enfermedad de von Gierke

La producción excesiva de purina y la hiperuricemia en la enfermedad de von Gierke **(deficiencia de glucosa-6-fosfatasa)** son una consecuencia de generación aumentada del precursor de PRPP ribosa 5-fosfato. Una acidosis láctica relacionada incrementa el umbral renal para urato, lo que aumenta los uratos corporales totales.

Hipouricemia

La hipouricemia y la excreción incrementada de hipoxantina y xantina muestran vínculo con **deficiencia de xantina oxidasa** (figura 33-11) debido a un defecto genético o a daño hepático grave. Los individuos con una deficiencia enzimática grave pueden tener xantinuria o litiasis por xantina.

Deficiencia de adenosina desaminasa y de nucleósido purina fosforilasa

La **deficiencia de adenosina desaminasa** (figura 33-11) se relaciona con una enfermedad por inmunodeficiencia en la cual los linfocitos derivados tanto del timo (células T) como de la médula ósea (células B) son escasos y disfuncionales. Los afectados sufren inmunodeficiencia grave. En ausencia de reemplazo de enzima o de trasplante de médula ósea, los lactantes suelen sucumbir a infecciones mortales. La **deficiencia de nucleósido purina fosforilasa** muestra vínculo con una deficiencia grave de células T pero función de células B al parecer normal. Las disfunciones inmunitarias parecen depender de acumulación de dGTP y dATP, que inhiben la ribonucleótido reductasa y, de esta manera, agotan los precursores de DNA en las células. En el **cuadro 33-1** se resumen los trastornos conocidos del metabolismo de la purina.

EL CATABOLISMO DE PIRIMIDINAS PRODUCE METABOLITOS HIDROSOLUBLES

Al contrario de los productos de baja solubilidad del catabolismo de la purina, el catabolismo de las pirimidinas forma productos muy hidrosolubles: CO_2, NH_3, β-alanina y β-aminoisobutirato (**figura 33-12**). Los seres humanos transaminan el β-aminoisobutirato hacia metilmalonato semialdehído, que a continuación forma succinil-CoA (figura 20-2). La excreción de β-aminoisobutirato aumenta en la leucemia y en la exposición grave a rayos X, debido al incremento de la destrucción de DNA. Aun así, muchas personas de ascendencia china o japonesa excretan de modo sistemático β-aminoisobutirato. Los trastornos del metabolismo de la β-alanina y del β-aminoisobutirato surgen por

CUADRO 33–1 Trastornos metabólicos del metabolismo de purina y pirimidina

Enzima defectuosa	Número de catálogo de la enzima	Referencia OMIM	Signos y síntomas principales	Figura y reacción
Metabolismo de la purina				
Hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa	2.4.2.8	308000	Síndrome de Lesch-Nyhan: Uricemia; automutilación	33–4 ②
PRPP sintasa	2.7.6.1	311860	Gota, artritis gotosa	33–2 ①
Adenosina desaminasa	3.5.4.6	102700	Sistema inmunitario con afectación grave	33–1 ①
Fosforilasa de nucleósido de purina	2.4.2.1	164050	Trastornos autoinmunitarios benignos e infecciones oportunistas	33–11 ②
Metabolismo de pirimidina				
Dihidroxipirimidina deshidrogenasa	1.3.1.2	274270	Pueden desarrollar toxicidad a 5-fluorouracilo, también un sustrato para esta deshidrogenasa	33–12 ②
Orotato fosforribosil transferasa y ácido orotidílico descarboxilasa	2.4.2.10 y 4.1.1.23	258900	Aciduria por ácido orótico tipo 1; anemia megaloblástica	33–9 ⑤ y ⑥
Ácido orotidílico descarboxilasa	4.1.1.23	258920	Aciduria orótica tipo 2	33–9 ⑥

defectos de las enzimas del catabolismo de pirimidina; éstos comprenden **aciduria β-hidroxibutírica**, un trastorno debido a deficiencia total o parcial de la enzima **dihidropirimidina deshidrogenasa** (figura 33-12). La enfermedad genética refleja una falta de la enzima. Un trastorno del catabolismo de pirimidina, también conocido como uraciluria-timinuria combinada es, asimismo, un trastorno del metabolismo del β-aminoácido, puesto que la *formación* de β-alanina y de β-aminoisobutirato está alterada. Cuando se debe a un error congénito, hay serias complicaciones neurológicas. Una forma no genética se desencadena por la administración del fármaco anticáncer 5-fluorouracilo (figura 32-13) a pacientes que tienen concentraciones bajas de dihidropirimidina deshidrogenasa.

La seudouridina se excreta sin cambios

Ninguna enzima de ser humano cataliza la hidrólisis o la fosforólisis de la seudouridina (ψ) derivada de la degradación de moléculas de RNA. Por tal motivo, este nucleótido poco común se excreta sin cambios en la orina de sujetos normales. De hecho, la seudouridina se aisló por vez primera a partir de orina del ser humano (**figura 33-13**).

LA PRODUCCIÓN EXCESIVA DE CATABOLITOS DE PIRIMIDINA SÓLO RARA VEZ SE RELACIONA CON ANORMALIDADES IMPORTANTES EN CLÍNICA

Dado que los productos terminales del catabolismo de la pirimidina son muy hidrosolubles, la producción excesiva de pirimidina suscita pocos signos o síntomas clínicos. El cuadro 33-1 lista excepciones. En la hiperuricemia vinculada con producción excesiva grave de PRPP, hay producción exagerada de nucleótidos pirimidina y excreción aumentada de β-alanina. Dado que se necesita N^5,N^{10}-metileno-tetrahidrofolato para la síntesis del timidilato, los trastornos del metabolismo del folato y de la vitamina B_{12} producen deficiencias de TMP.

Acidurias oróticas

La aciduria orótica que acompaña al **síndrome de Reye** probablemente es una consecuencia de la incapacidad de mitocondrias dañadas de manera grave para usar carbamoil fosfato, que entonces queda disponible para la producción citosólica excesiva de ácido orótico. La **aciduria orótica tipo I** refleja una deficiencia tanto de orotato fosforribosiltransferasa como de orotidilato descarboxilasa (reacciones ⑤ y ⑥, figura 33-9); la **aciduria orótica tipo II**, más rara, se debe a una deficiencia sólo de orotidilato descarboxilasa (reacción ⑥, figura 33-9).

La deficiencia de una enzima del ciclo de la urea ocasiona excreción de precursores de pirimidina

La excreción incrementada de ácido orótico, uracilo y uridina acompaña a una deficiencia de ornitina transcarbamoilasa en las mitocondrias del hígado (reacción ②, figura 28-13). El carbamoil fosfato excesivo sale hacia el citosol, donde estimula la biosíntesis de nucleótido pirimidina. Los alimentos con alto contenido de nitrógeno aumentan la **aciduria orótica** leve resultante.

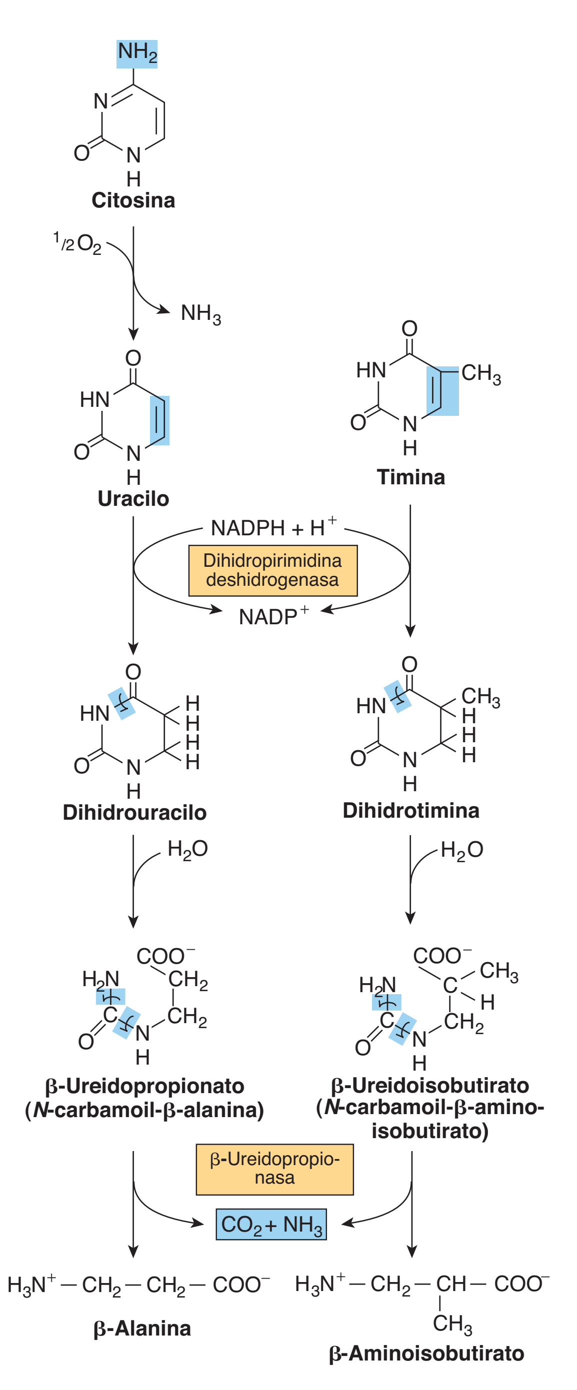


FIGURA 33–12 Catabolismo de las pirimidinas. La β-ureidopropionasa hepática cataliza la formación de β-alanina y de β-aminoisobutirato a partir de sus precursores de pirimidina.

La aciduria orótica puede precipitarse por fármacos

El **alopurinol** (figura 32-13), un sustrato alternativo para la orotato fosforribosiltransferasa (reacción ⑤, figura 33-9), compite con el ácido orótico. El producto nucleótido resultante también inhibe a la orotidilato descarboxilasa (reacción ⑥, figura 33-9), lo que da por resultado **aciduria orótica** y **orotidinuria**. La 6-azauridina, después de conversión en 6-azauridilato, también inhibe de manera competitiva a la orotidilato descarboxilasa (reacción ⑥, figura 33-9), lo que incrementa la excreción de ácido orótico y orotidina. Se han identificado cuatro genes que codifican para transportadores de urato. Dos de las proteínas codificadas están ubicadas en la membrana apical de células de los túbulos proximales.

FIGURA 33–13 Seudouridina, en la cual la ribosa está enlazada al C5 de la uridina.

RESUMEN

- Los ácidos nucleicos ingeridos se degradan hacia purinas y pirimidinas. Se forman nuevas purinas y pirimidinas a partir de intermediarios anfibólicos y, de este modo, son no esenciales en la dieta.
- Varias reacciones de la biosíntesis del IMP requieren derivados del folato y glutamina. En consecuencia, los fármacos antifolato y los análogos de la glutamina inhiben la biosíntesis de purina.
- La oxidación y aminación del IMP forman AMP y GMP, y la transferencia subsiguiente de fosforilo desde el ATP forma ADP y GDP. La transferencia adicional de fosforilo desde ATP hacia GDP forma GTP. El ADP se convierte en ATP mediante fosforilación oxidativa. La reducción de NDP forma dNDP.
- La biosíntesis hepática de nucleótido purina está estrictamente regulada por el tamaño del fondo común de PRPP y por inhibición por retroacción de la PRPP-glutamil amidotransferasa por el AMP y GMP.
- La regulación coordinada de la biosíntesis de nucleótido purina y pirimidina asegura su presencia en proporciones apropiadas para la biosíntesis de ácido nucleico y otras necesidades metabólicas.
- Los seres humanos catabolizan las purinas hacia ácido úrico (pK_a de 5.8), presente como el ácido relativamente insoluble a pH ácido o como su sal urato de sodio más soluble a un pH cercano a la neutralidad. Los cristales de urato son diagnósticos de gota. Otros trastornos del catabolismo de la purina son el síndrome de Lesch-Nyhan, la enfermedad de von Gierke y las hipouricemias.
- Puesto que los catabolitos de la pirimidina son hidrosolubles, su producción excesiva no origina anormalidades clínicas. Comoquiera que sea, la excreción de precursores de pirimidina puede depender de una deficiencia de la ornitina transcarbamoilasa porque el carbamoil fosfato excesivo está disponible para la biosíntesis de pirimidina.

REFERENCIAS

Chow EL, Cherry JD, Harrison R, et al: Reassessing Reye syndrome. Arch Pediatr Adolesc Med 2003;157:1241.

Christopherson RI, Lyons SD, Wilson PK: Inhibitors of de novo nucleotide biosynthesis as drugs. Acc Chem Res 2002;35:961.

Kamal MA, Christopherson RI: Accumulation of 5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate in human CCRF-CEM leukemia cells treated with antifolates. Int J Biochem Cell Biol 2004;36:957.
Lipkowitz MS, Leal-Pinto E, Rappoport JZ, et al: Functional reconstitution, membrane targeting, genomic structure, and chromosomal localization of a human urate transporter. J Clin Invest 2001;107:1103.
Martinez J, Dugaiczyk LJ, Zielinski R, et al: Human genetic disorders, a phylogenetic perspective. J Mol Biol 2001; 308:587.
Moyer RA, John DS: Acute gout precipitated by total parenteral nutrition. J Rheumatol 2003;30:849.
Nofech-Mozes Y, Blaser SI, Kobayashi J, et al: Neurologic abnormalities in patients with adenosine deaminase deficiency. Pediatr Neurol 2007;37:218.
Rafey MA, Lipkowitz MS, Leal-Pinto E, et al: Uric acid transport. Curr Opin Nephrol Hypertens 2003;12:511.
Scriver CR, Sly WS, Childs B, et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001.
Torres RJ, Puig JG: Hypoxanthine-guanine phosophoribosyltransferase (HPRT) deficiency: Lesch–Nyhan syndrome. Orphanet J Rare Dis 2007;2:48.
Wu VC, Huang JW, Hsueh PR, et al: Renal hypouricemia is an ominous sign in patients with severe acute respiratory syndrome. Am J Kidney Dis 2005;45:88.

CAPÍTULO

34

Estructura y función del ácido nucleico

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Entender la estructura química monomérica y polimérica del material genético, el ácido desoxirribonucleico, o DNA, que se encuentra dentro del núcleo de células eucarióticas.
- Explicar por qué el DNA eucarionte nuclear genómico es bicatenario y tiene carga altamente negativa.
- Entender el esbozo de cómo la información genética del DNA puede duplicarse fielmente.
- Entender cómo la información genética del DNA se transcribe, o se copia, hacia muchísimas formas distintas de ácido ribonucleico (RNA).
- Apreciar que una forma de RNA rico en información, el llamado RNA mensajero (mRNA), puede traducirse después hacia proteínas, las moléculas que constituyen las estructuras, las formas, y finalmente las funciones de células individuales, tejidos y órganos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El descubrimiento de que la información genética está codificada a lo largo de una molécula polimérica compuesta de sólo cuatro tipos de unidades monoméricas fue uno de los principales logros científicos del siglo xx. Esta molécula polimérica, el **ácido desoxirribonucleico (DNA)**, es la base química de la herencia, y está organizada en genes, las unidades fundamentales de la información genética. Se ha dilucidado la vía de información básica —es decir, el DNA, que dirige la síntesis de RNA, que a su vez dirige y regula la síntesis de proteína—. Los genes no funcionan de modo autónomo; su replicación y función están controladas por diversos productos de gen, a menudo en colaboración con componentes de diversas vías de transducción de señal. El conocimiento de la estructura y función de los ácidos nucleicos es esencial para entender los aspectos genéticos y muchos de la fisiopatología, así como la base genética de la enfermedad.

EL DNA CONTIENE LA INFORMACIÓN GENÉTICA

En 1944, en una serie de experimentos efectuados por Avery, MacLeod y McCarty, se demostró por vez primera que el DNA contiene la información genética. Mostraron que la determinación genética de la naturaleza (el tipo) de la cápsula de un neumococo específico podía transmitirse a otro de un tipo capsular diferente al introducir DNA purificado desde el primer coco hacia el segundo. Estos autores denominaron “factor transformador” al agente que lograba el cambio (que más tarde se mostró que es el DNA). Después, este tipo de manipulación genética se ha hecho común. Recientemente se han llevado a cabo experimentos similares utilizando levaduras, células en cultivo de vegetales y mamíferos, y embriones de insectos y de mamíferos como receptores, y DNA clonado desde el punto de vista molecular como el donador de información genética.

El DNA contiene cuatro desoxinucleótidos

La naturaleza química de las unidades de desoxinucleótido monoméricas del DNA —**desoxiadenilato, desoxiguanilato, desoxicitidilato** y **timidilato**— se describe en el capítulo 32; estas unidades monoméricas del DNA se mantienen en forma polimérica por medio de enlaces 3′,5′-fosfodiéster que constituyen una cadena única (**figura 34-1**). El contenido informacional del DNA (el código genético) reside en la secuencia en la cual están ordenados estos monómeros —purina y pirimidina desoxirri-

FIGURA 34–1 **Un segmento de una cadena de una molécula de DNA en la cual las bases purina y pirimidina: guanina (G), citosina (C), timina (T) y adenina (A), se mantienen juntas mediante un esqueleto fosfodiéster entre las porciones 2′-desoxirribosilo fijas a las nucleobases por medio de un enlace *N*-glucosídico.** Note que el esqueleto tiene una polaridad (esto es, una dirección). La convención dicta que una secuencia de DNA de una sola cadena está escrita en la dirección 5′ a 3′ (o sea, pGpCpTpA, donde G, C, T y A representan las cuatro bases, y p representa los fosfatos que producen interconexiones).

bonucleótidos—. El polímero como se describe posee una polaridad; un extremo tiene un 5′-hidroxilo o fosfato terminal, mientras que el otro tiene un 3′-fosfato o hidroxilo terminal. La importancia de esta polaridad quedará de manifiesto. Dado que la información genética reside en el orden de las unidades monoméricas dentro de los polímeros, es necesario que haya un mecanismo para reproducir o replicar esta información específica con un alto grado de fidelidad. Ese requerimiento, junto con datos de difracción con rayos X de la molécula de DNA, y la observación de Chargaff de que en las moléculas de DNA la concentración de nucleótidos desoxiadenosina (A) es igual a la de nucleótidos timidina (T) (A = T), mientras que la de nucleótidos desoxiguanosina (G) es igual a la de nucleótidos desoxicitidina (C) (G = C), condujeron a Watson, Crick y Wilkins a proponer a principios del decenio de 1950 un modelo de una molécula de DNA bicatenario. El modelo que propusieron se presenta en la **figura 34-2**. Las dos cadenas de esta hélice bicatenaria se mantienen en registro por medio tanto de **enlaces de hidrógeno** entre las bases purina y pirimidina de las moléculas lineales respectivas, como de **interacciones de van der Waals** e **hidrofóbicas** entre los pares de bases adyacentes apilados. La formación de pares entre los nucleótidos purina y pirimidina en las cadenas opuestas es muy específica, y depende del enlace de hidrógeno de **A con T** y de **G con C** (figura 34-2).

Se dice que esta forma común de DNA es diestra porque al mirar la doble hélice desde arriba, los residuos base forman una espiral en el sentido de las manecillas del reloj. En la molécula bicatenaria, las restricciones impuestas por la rotación alrededor del enlace fosfodiéster, la anticonfiguración favorecida del enlace glucosídico (figura 32-5), y los tautómeros predominantes (figura 32-2) de las cuatro bases (A, G, T y C) permiten que A únicamente forme par con T, y que G sólo forme par con C (**figura 34-3**). Esta restricción de la formación de pares de bases explica la observación más temprana de que en una molécula de DNA bicatenario el contenido de A es igual al de T, y el de G es igual al de C. Las dos cadenas de la molécula de doble hélice, cada una de las cuales posee una polaridad, son **antiparalelas**; esto es, una cadena corre en la dirección de 5′ a 3′, y la otra en la dirección de 3′ a 5′. En las moléculas de DNA bicatenario, la información genética reside en la secuencia de nucleótidos en una cadena, la **cadena plantilla**; ésta es la cadena de DNA que se copia durante la síntesis de **ácido ribonucleico (RNA)**. A veces se llama cadena **no codificadora**. La cadena opuesta se considera la **cadena codificadora** porque coincide con la secuencia de la transcripción de RNA (pero contiene uracilo en lugar de timina; figura 34-8) que codifica para la proteína.

Las dos cadenas, en las cuales bases opuestas se mantienen juntas mediante enlaces de hidrógeno intercadena, giran alrededor de un eje central en la forma de una **doble hélice**. En el tubo de ensayo el DNA bicatenario puede existir en al menos seis formas (A a E, y Z). La forma B por lo general se encuentra en condiciones fisiológicas (sal baja, alto grado de hidratación). Un

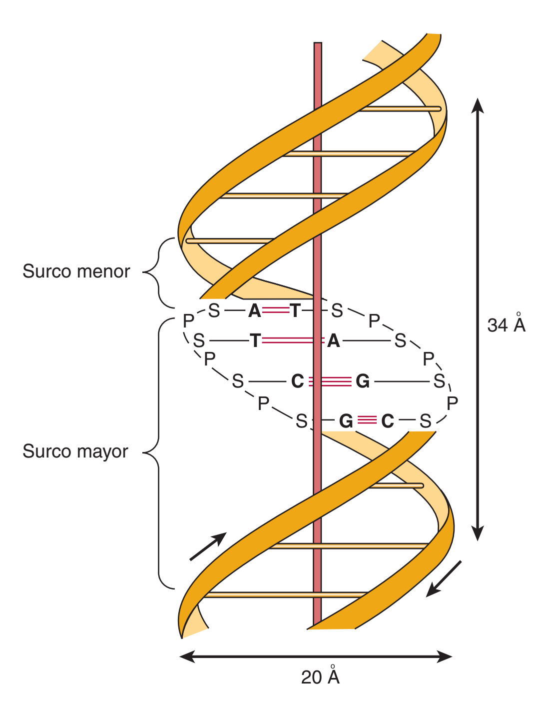


FIGURA 34–2 Diagrama que representa el modelo de Watson y Crick de la estructura de doble hélice de la forma B del DNA. La flecha horizontal indica la anchura de la doble hélice (20 Å), y la flecha vertical indica la distancia abarcada por un giro completo de la doble hélice (34 Å). Un giro del B-DNA incluye 10 pares de bases (bp), de manera que el aumento es de 3.4 Å por bp. La varilla vertical indica el eje central de la doble hélice. Las flechas cortas designan la polaridad de las cadenas antiparalelas. Se muestran los surcos mayor y menor. (A, adenina; C, citosina; G, guanina; T, timina; P, fosfato; S, azúcar [desoxirribosa].) Las líneas horizontales, cortas, de color rojo indican los enlaces de hidrógeno entre bases A/T y G/C.

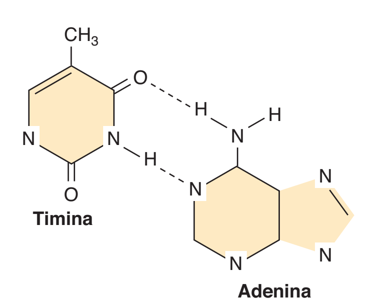


FIGURA 34–3 La formación de pares de bases de DNA entre la adenina y la timina involucra la formación de dos enlaces de hidrógeno. Se forman tres de esos enlaces entre citidina y guanidina. Las líneas discontinuas representan enlaces de hidrógeno.

solo giro de B-DNA alrededor del eje largo de la molécula contiene 10 pares de bases. La distancia abarcada por un giro del B-DNA es de 3.4 nm (34 Å). La anchura (el diámetro de la hélice) de la doble hélice en el B-DNA es de 2 nm (20 Å).

Tres enlaces de hidrógeno, formados por hidrógeno unido a átomos de N u O electronegativos (figura 34-3), sujetan el nucleótido desoxiguanosina al nucleótido desoxicitidina, mientras que dos enlaces de hidrógeno mantienen junto el otro par, el par A-T. Así, los enlaces G-C son más resistentes a la desnaturalización, o separación de cadena, denominada "fusión", que las regiones de DNA con alto contenido de A-T.

La desnaturalización de DNA se usa para analizar su estructura

La estructura bicatenaria del DNA puede separarse en dos cadenas componentes en solución al aumentar la temperatura o disminuir las cifras de sal. Las dos pilas de bases no sólo se separan, sino que las bases mismas se desapilan mientras que aún están conectadas en el polímero por el esqueleto fosfodiéster. Concomitante con esta desnaturalización de la molécula de DNA hay un incremento de la absorbancia óptica de las bases purina y pirimidina, fenómeno llamado **hipercromicidad** de la desnaturalización. Debido al apilamiento de las bases y a la formación de enlaces de hidrógeno entre las pilas, la molécula de DNA bicatenario muestra propiedades de varilla rígida, y en solución es un material viscoso que pierde su viscosidad en el momento de la desnaturalización.

Las cadenas de una molécula de DNA dada se separan en un rango de temperatura. El punto medio se denomina **temperatura de fusión, o T_m**. La T_m está influida por la composición de bases del DNA y por la concentración de sal de la solución. El DNA rico en pares G-C, que tienen tres enlaces de hidrógeno, se fusiona a una temperatura más alta que el que abunda en pares A-T, que tienen dos enlaces de hidrógeno. Un aumento de 10 veces de las cifras de catión monovalente incrementa la T_m 16.6°C. El solvente orgánico formamida, que a menudo se usa en experimentos de DNA recombinante, desestabiliza los enlaces de hidrógeno entre las bases, y por eso aminora la T_m. La adición de formamida permite que las cadenas de DNA o los híbridos de DNA-RNA se separen a temperaturas mucho más bajas, y minimiza la rotura de enlaces fosfodiéster que puede ocurrir a temperaturas más altas.

La renaturalización del DNA requiere coincidencia de pares de bases

Es importante señalar que las cadenas separadas de DNA se renaturalizarán o reasociarán cuando se logren condiciones de temperatura y sal fisiológicas apropiadas; este proceso de retemplado suele llamarse **hibridación**. El índice de reasociación depende de la concentración de las cadenas complementarias. La reasociación de las dos cadenas de DNA complementarias de un cromosoma luego de transcripción es un ejemplo fisiológico de renaturalización (véase más adelante). A una temperatura y cifras de sal dadas, una cadena de ácido nucleico particular se asociará de manera estrecha sólo con una cadena complementaria. Las moléculas híbridas también se formarán en condiciones apropiadas. Por ejemplo, el DNA formará un híbrido, con un

DNA complementario (cDNA) o con un RNA mensajero (mRNA; véase más adelante) cognado. Cuando la hibridización se combina con técnicas de electroforesis en gel que separan ácidos nucleicos por tamaño, junto con marcado radiactivo o fluorescente para proporcionar una señal detectable, a las técnicas analíticas resultantes se les denominan **electrotransferencia Southern (DNA/DNA)** y **Northern (RNA-DNA)**, respectivamente. Estos procedimientos permiten identificación muy clara, y muy sensible, de especies de ácido nucleico específicas a partir de mezclas complejas de DNA o RNA (cap. 39).

La molécula de DNA tiene surcos

El examen cuidadoso del modelo descrito en la figura 34-2 revela un **surco mayor** y un **surco menor** que dan vueltas a lo largo de la molécula paralelos a los esqueletos fosfodiéster. En estos surcos, las proteínas pueden interactuar de modo específico con átomos expuestos de los nucleótidos (por medio de interacciones hidrofóbicas y iónicas específicas) y por ello reconocen, y se unen a, secuencias de nucleótido específicas, así como las únicas formas constituidas a partir de ahí. La unión ocurre regularmente sin alterar la formación de pares de bases de la molécula de DNA de doble hélice. Como se explica en los capítulos 36 y 38, proteínas reguladoras controlan la expresión de genes específicos mediante esas interacciones.

El DNA existe en formas relajada y superenrollada

En algunos organismos, como bacterias, bacteriófagos, muchos virus de animales que contienen DNA, así como organelos como las mitocondrias (figura 35-8), los extremos de las moléculas de DNA están unidos para crear un círculo cerrado sin extremos covalentemente libres. Claro que esto no destruye la polaridad de las moléculas, pero elimina todos los grupos hidroxilo y fosforilo 3′ y 5′. Los círculos cerrados existen en formas relajada y superenrollada. Las superhélices se introducen cuando un círculo cerrado se gira alrededor de su propio eje o cuando un fragmento lineal del DNA dúplex, cuyos extremos están fijos, se tuerce. Este proceso que necesita energía coloca a la molécula bajo tensión de torsión, y mientras mayor es el número de superhélices, mayor es la tensión o torsión (esto se prueba al torcer una banda de caucho, goma o liga). Las **superhélices negativas** se forman cuando la molécula se tuerce en la dirección opuesta desde las vueltas en la dirección de las manecillas del reloj de la doble hélice diestra que se encuentra en el B-DNA. Se dice que ese DNA está subgirado. La energía requerida para lograr este estado se encuentra, en cierto sentido, almacenada en las superhélices. Por ello, el subgiro facilita la transición hacia otra forma que requiere energía (figura 35-19). Una transición de ese tipo es la separación de cadena, que es un prerrequisito para la replicación y transcripción del DNA. En consecuencia, el DNA superenrollado es una forma preferida en sistemas biológicos. Las enzimas que catalizan cambios topológicos del DNA se llaman **topoisomerasas**, las cuales pueden relajar o insertar superhélices, usando ATP como una fuente de energía. Hay homólogos de esta enzima en todos los organismos, y son blancos importantes de la quimioterapia de cáncer.

EL DNA PROPORCIONA UNA PLANTILLA PARA REPLICACIÓN Y TRANSCRIPCIÓN

La información genética almacenada en la secuencia de nucleótido del DNA tiene dos propósitos. Es la fuente de información para la síntesis de todas las moléculas de proteína de la célula y el organismo, y proporciona la información heredada por células hijas o por la descendencia. Ambas funciones requieren que la molécula de DNA sirva como una plantilla, en el primer caso para la transcripción de la información hacia el RNA, y en el segundo para la replicación de la información hacia moléculas de DNA hijas.

Cuando cada cadena de la molécula de DNA bicatenario madre se separa desde su complemento en el transcurso de la replicación, cada una sirve de manera independiente como una plantilla con base en la cual se sintetiza una nueva cadena complementaria (**figura 34-4**). Las dos moléculas de DNA bicatenario hijas recién formadas, cada una de las cuales contiene una cadena (pero complementaria más que idéntica) de la molécula de DNA bicatenario madre, a continuación se separan entre las

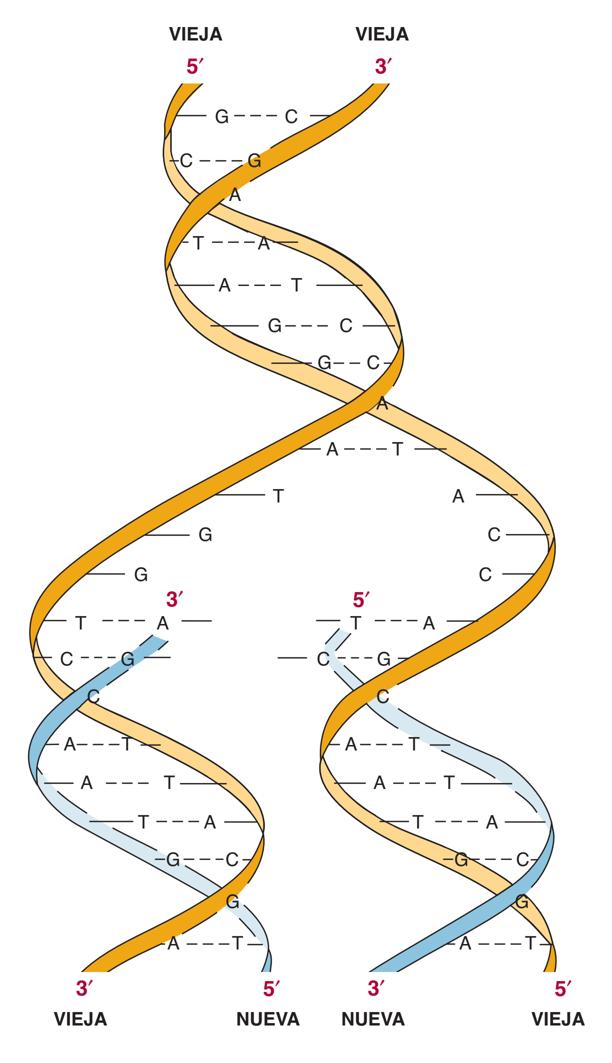


FIGURA 34–4 **La estructura bicatenaria del DNA y la función de plantilla de cada cadena vieja (anaranjada) sobre la cual se sintetiza una nueva cadena complementaria (azul).**

dos células hija (**figura 34-5**). Cada célula hija contiene moléculas de DNA con información idéntica a la que poseía la célula madre; sin embargo, en cada célula hija la molécula de DNA de la célula madre únicamente se ha semiconservado.

LA NATURALEZA QUÍMICA DEL RNA DIFIERE DE LA DEL DNA

El ácido ribonucleico (RNA) es un polímero de purina y pirimidina ribonucleótidos unidos entre sí por enlaces 3′,5′-fosfodiéster análogos a los que están en el DNA (**figura 34-6**). Aun cuando comparte muchas características con el DNA, el RNA posee varias diferencias específicas:

1. En el RNA, la parte azúcar a la cual los fosfatos y las bases purina y pirimidina están fijos es ribosa en lugar de la 2′-desoxirribosa del DNA.
2. Los componentes pirimidina del RNA difieren de los del DNA. Si bien el RNA contiene los ribonucleótidos de adenina, guanina y citosina, no posee timina excepto en el raro caso que se menciona más adelante. En lugar de timina, el RNA contiene el ribonucleótido de uracilo.
3. El RNA típicamente existe como una cadena única, mientras que el DNA como una molécula helicoidal bicatenaria. Empero, dada la secuencia de bases complementaria apropiada con polaridad opuesta, la cadena única de RNA —como se demuestra en la **figura 34-7** y la figura 34-11— tiene la capacidad de plegarse sobre sí misma a manera de

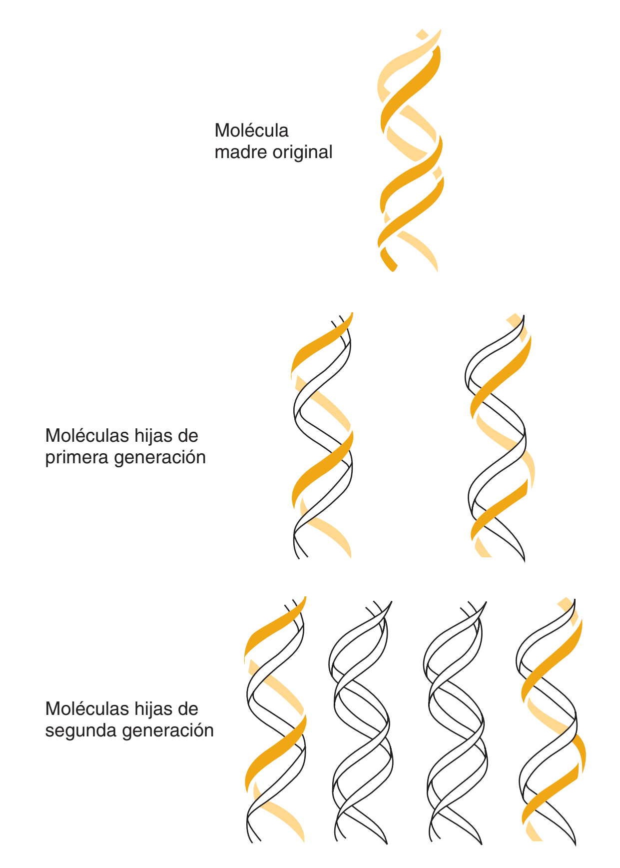


FIGURA 34–5 La replicación del DNA es semiconservadora. Durante una ronda de replicación, cada una de las dos cadenas de DNA se usa como una plantilla para la síntesis de una nueva cadena complementaria.

FIGURA 34–6 Un segmento de una molécula de ácido ribonucleico (RNA) en el cual las bases purina y pirimidina —guanina (G), citosina (C), uracilo (U) y adenina (A)— se mantienen juntas mediante enlaces fosfodiéster entre porciones ribosilo fijas a las nucleobases por medio de enlaces *N*-glucosídicos. Note que el polímero tiene una polaridad según lo indican los fosfatos marcados fijos a 3′ y 5′.

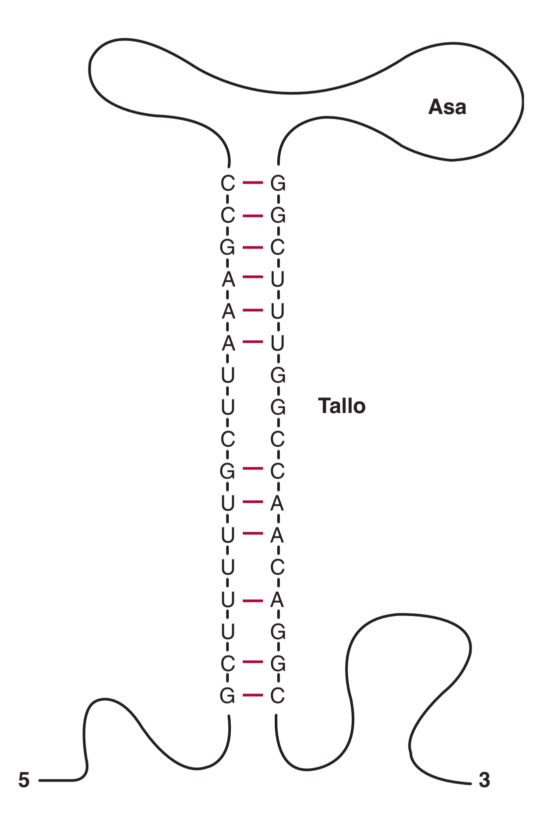


FIGURA 34–7 Diagrama que representa la estructura secundaria de una molécula de RNA de cadena única en la cual se ha formado un tallo con asa, u "horquilla". La formación de esta estructura depende de la formación intramolecular de pares de base indicada (líneas horizontales coloreadas entre las bases). Note que A forma enlaces de hidrógeno con U en el RNA.

horquilla y, de este modo, adquirir características bicatenarias: G que forma pares con C, y A con U.

4. Puesto que la molécula de RNA es una cadena única complementaria a sólo una de las dos cadenas de un gen, su contenido de guanina no necesariamente es igual a su contenido de citosina, ni su contenido de adenina es necesariamente igual a su contenido de uracilo.
5. Los álcalis pueden hidrolizar al RNA hacia diésteres 2′,3′ cíclicos de los mononucleótidos, compuestos que no se pueden formar a partir de DNA tratado con álcali debido a la ausencia de un grupo 2′-hidroxilo. La labilidad del RNA a álcali es útil con fines tanto diagnósticos como analíticos.

La información dentro de la cadena única de RNA está contenida en su secuencia ("estructura primaria") de nucleótidos purina y pirimidina dentro del polímero. La secuencia es complementaria a la cadena plantilla del gen a partir del cual se transcribió. Debido a esta complementariedad, una molécula de RNA puede unirse de manera específica por medio de las reglas de formación de pares de bases a su cadena de DNA plantilla (**A**-T, **G**-C, **C**-G, **U**-A; la base del RNA va en negritas); no se unirá ("hibridará") con la otra cadena (codificadora) de su gen. La secuencia de la molécula de RNA (salvo por U que reemplaza a T) es la misma que la de la cadena codificadora del gen (**figura 34-8**).

Casi todas las especies de RNA estable, abundante, participan en algún aspecto de la síntesis de proteína

Las moléculas de RNA citoplásmico que sirven como plantillas para la síntesis de proteína (es decir, que transfieren información genética desde el DNA hacia la maquinaria sintetizadora de proteína) se designan **RNA mensajeros**, o **mRNA**. Muchas otras moléculas de RNA citoplásmicas muy abundantes (**RNA ribosómicos; rRNA**) tienen funciones estructurales en donde contribuyen a la formación y función de ribosomas (la maquinaria en el ámbito de organelo para la síntesis de proteína) o sirven como moléculas adaptadoras (**RNA de transferencia; tRNA**) para la traducción de información del RNA hacia secuencias específicas de aminoácidos polimerizados.

Es interesante que algunas moléculas de RNA tienen actividad catabólica intrínseca. La actividad de estas **ribozimas** a menudo incluye la división de un ácido nucleico. Dos enzimas de RNA bien estudiadas, o ribozimas, son la peptidil transferasa que cataliza la formación de enlaces peptídicos en el ribosoma, y ribozimas comprendidas en el empalme del RNA.

En todas las células eucarióticas hay especies de **RNA nuclear pequeño (snRNA)** que no participan de modo directo en la síntesis de proteína pero desempeñan funciones cruciales en el procesamiento del RNA. El tamaño de estas moléculas relativamente pequeñas varía desde 90 hasta alrededor de 300 nucleótidos (**cuadro 34-1**). Las propiedades de las diversas clases de RNA celular se detallan más adelante.

El material genético para algunos virus de animales y vegetales es RNA en lugar de DNA. Aunque algunos virus RNA nunca transcriben su información hacia una molécula de DNA, muchos virus RNA de animales —en específico, los retrovirus (p. ej., el HIV)— se transcriben mediante **DNA polimerasa dependiente**



FIGURA 34–8 La relación entre las secuencias de una transcripción de RNA y su gen, en la cual las cadenas codificadora y plantilla se muestran con sus polaridades. La transcripción de RNA con una polaridad 5′ a 3′ es complementaria a la cadena plantilla con su polaridad 3′ a 5′. Note que la secuencia en la transcripción de RNA y su polaridad es la misma que la que hay en la cadena codificadora, salvo porque la U de la transcripción reemplaza a la T del gen; el nucleótido iniciador de RNA contiene una terminal 5′-trifosfato (pppA arriba).

CUADRO 34–1 Algunas de las especies de RNA estables pequeñas que se encuentran en células de mamífero

Nombre	Longitud (nucleótidos)	Moléculas por célula	Localización
U1	165	1×10^6	Nucleoplasma
U2	188	5×10^5	Nucleoplasma
U3	216	3×10^5	Nucléolo
U4	139	1×10^5	Nucleoplasma
U5	118	2×10^5	Nucleoplasma
U6	106	3×10^5	Gránulos pericromatina
4.5S	95	3×10^5	Núcleo y citoplasma
7SK	280	5×10^5	Núcleo y citoplasma

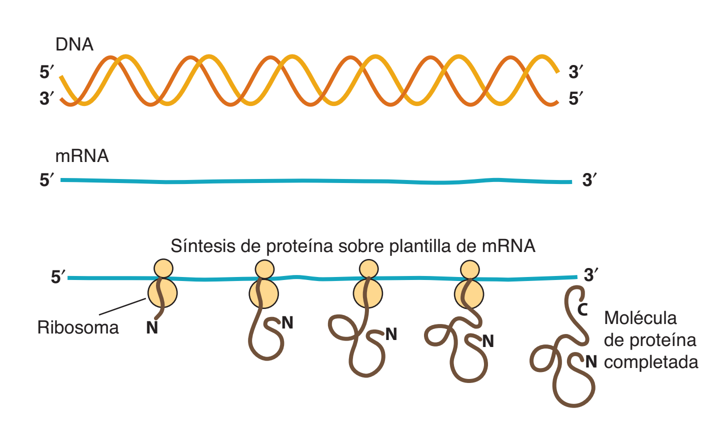


FIGURA 34–9 La expresión de información genética en el DNA hacia la forma de una transcripción de mRNA; se muestra la polaridad 5′ a 3′. Los ribosomas después traducen el mRNA hacia una molécula de proteína específica que también exhibe polaridad N terminal (**N**) a C terminal (**C**).

de RNA viral, la denominada transcriptasa inversa, para producir una copia de DNA bicatenario de su genoma de RNA. En muchos casos, la transcripción de DNA de doble cadena resultante se integra en el genoma del huésped y después sirve como una plantilla para la expresión de gen a partir de la cual pueden transcribirse nuevos genomas de RNA viral y mRNA virales. La inserción genómica de esas moléculas de DNA "proviral" integradoras puede, dependiendo del sitio afectado, ser mutagénica, lo cual desactiva un gen o altera la regulación de su expresión (figura 35-11).

Hay varias clases de RNA

En todos los organismos procarióticos y eucarióticos, hay cuatro clases principales de moléculas de RNA: mensajero (mRNA), de transferencia (tRNA), ribosómico (rRNA), y los RNA pequeños. Cada uno difiere de los otros en su abundancia, tamaño, función y estabilidad general.

RNA mensajero (mRNA)

Esta clase es la de abundancia, tamaño y estabilidad más heterogéneos; por ejemplo, en la levadura de cerveza mRNA específicos están presentes en cientos/célula hasta, en promedio, ≤0.1 mRNA por célula en una población genéticamente homogénea. Mecanismos tanto transcripcionales como postranscripción específicos contribuyen a este rango dinámico grande en el contenido de mRNA (caps. 36 y 38). En las células de mamífero la abundancia de mRNA probablemente varía en un rango de 10^4 veces. Todos los miembros de la clase funcionan como mensajeros que transmiten la información en un gen hacia la maquinaria sintetizadora de proteína, donde cada mRNA sirve como una plantilla con base en la cual una secuencia específica de aminoácidos se polimeriza para formar una molécula de proteína específica, el producto final de gen (**figura 34-9**). Los mRNA eucarióticos tienen características químicas singulares. La terminal 5′ del mRNA está "cubierta" por un 7-metilguanosina trifosfato el cual está enlazado a un 2′-*O*-metil ribonucleósido adyacente en su 5′-hidroxilo por medio de los tres fosfatos (**figura 34-10**). Las moléculas de mRNA suelen contener 6-metiladenilatos internos y otros nucleósidos 2′-*O*-ribosa metilados. La cubierta participa en el reconocimiento del mRNA por la maquinaria de traducción, y ayuda también a estabilizar el mRNA al evitar el ataque de 5′-exonucleasas. La maquinaria sintetizadora de proteína empieza a traducir el mRNA hacia proteínas empezando torrente abajo de la terminal 5′ o cubierta. El otro extremo de las moléculas de mRNA, el 3′-hidroxilo terminal, tiene un polímero fijo de residuos adenilato de 20 a 250 nucleótidos de longitud, no genéticamente codificado. La "cola" poli(A) en el 3′-hidroxilo terminal de mRNA mantiene la estabilidad intracelular del mRNA específico al impedir el ataque de 3′-exonucleasas y facilita también la traducción (figura 37-7). Algunos mRNA, incluso aquellos para algunas histonas, no contienen una cola poli(A). Tanto la "cubierta" como la "cola poli(A)" de mRNA se agregan luego de la transcripción por enzimas no dirigidas por plantilla a moléculas precursoras de mRNA (pre-mRNA). El mRNA representa 2 a 5% del RNA total de células eucarióticas.

En células de mamífero, incluso las de seres humanos, las moléculas de mRNA presentes en el citoplasma no son los productos del RNA inmediatamente sintetizados a partir de la plantilla de DNA, sino que deben formarse por procesamiento desde el pre-RNA antes de que entre al citoplasma. De esta manera, en núcleos de mamífero, los productos inmediatos de la transcripción de gen (transcripciones primarias) son muy heterogéneos y pueden ser de 10 a 50 veces más largos que las moléculas de mRNA maduras. Las moléculas de pre-mRNA se procesan para generar las moléculas de mRNA que después entran al citoplasma para servir como plantillas para la síntesis de proteína (cap. 36).

RNA de transferencia (tRNA)

La longitud de las moléculas de tRNA varía desde 74 hasta 95 nucleótidos. También se generan por procesamiento nuclear de una molécula precursora (cap. 36). Las moléculas de tRNA sirven como adaptadoras para la traducción de la información en la secuencia de nucleótidos del mRNA hacia aminoácidos específicos. Hay al menos 20 especies de moléculas de tRNA en cada célula, y por lo menos una (y a menudo varias) corresponde a

CUBIERTA

Extremo 5′ del mRNA

FIGURA 34–10 La estructura de la cubierta fija a la terminal 5′ de casi todas las moléculas de RNA mensajero eucariótico. Un 7-metilguanosina trifosfato (negro) está fijo en la terminal 5′ del mRNA (que se muestra en color), que por lo general también contiene un nucleótido 2′-*O*-metilpurina. Estas modificaciones (la cubierta y el grupo metilo) se añaden luego de que el mRNA se transcribe desde el DNA.

cada uno de los 20 aminoácidos requeridos para la síntesis de proteína. Aun cuando cada tRNA específico difiere de los otros en su secuencia de nucleótidos, las moléculas de tRNA como clase tienen muchas características en común. La estructura primaria —es decir, la secuencia de nucleótido— de todas las moléculas de tRNA permite el plegado y la complementariedad intracadena extensos para generar una estructura secundaria que aparece en dos dimensiones como una hoja de trébol (**figura 34-11**).

Todas las moléculas de tRNA contienen cuatro brazos principales. El **brazo aceptor** termina en los nucleótidos CpCpAOH. Una enzima nucleotidil transferasa específica añade estos tres nucleótidos luego de la transcripción. El aminoácido apropiado para el tRNA se fija, o “carga” sobre el grupo 3′-OH de la porción A del brazo aceptor (figura 37-1). Los **brazos D, TψC** y **extra** ayudan a definir un tRNA específico. Los tRNA constituyen a grandes rasgos 20% del RNA celular total.

RNA ribosómico (rRNA)

Un ribosoma es una estructura nucleoproteínica citoplásmica que actúa como la maquinaria para la síntesis de proteínas a partir de las plantillas de mRNA. En los ribosomas, las moléculas de mRNA y tRNA interactúan para traducirse hacia una información acerca de molécula de proteína específica transcrita desde el gen. Durante periodos de síntesis activa de proteína, muchos ribosomas pueden asociarse con cualquier molécula de mRNA para formar un montaje llamado el **polisoma** (figura 37-7).

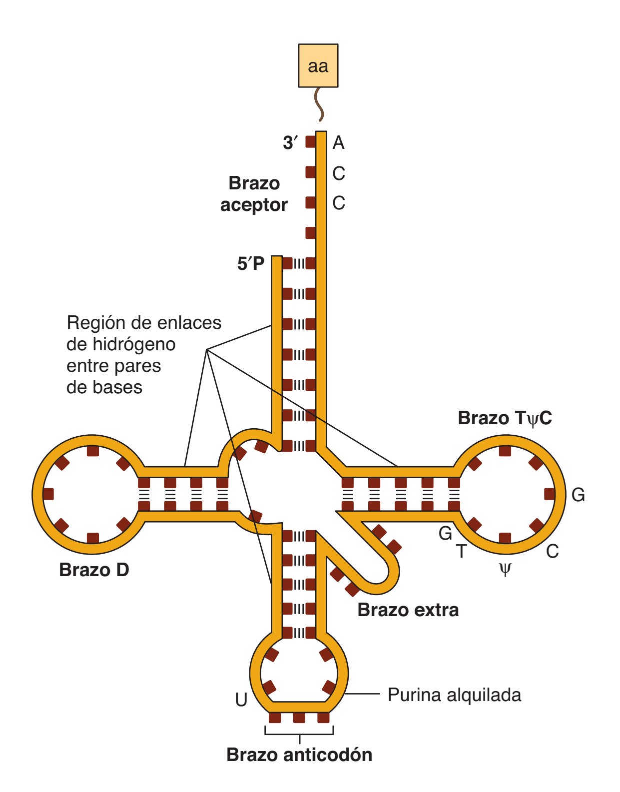


FIGURA 34–11 tRNA aminoacilo típico en el cual el aminoácido (aa) está fijo a la terminal 3′ CCA. El anticodón, TψC, y los brazos dihidrouracilo (D) están indicados, al igual que las posiciones del enlace de hidrógeno intramolecular entre estos pares de bases. ψ es la seudouridina, un isómero de la uridina que se forma después de la transcripción. (Watson JD, *et al.*: *Molecular Biology of the Gene,* 6th ed. © 2008, p. 243. Adaptada con permiso de Pearson Education, Inc., Upper Saddle River, NJ.)

En el **cuadro 34-2** se muestran los componentes del ribosoma de mamífero, que tiene un peso molecular de aproximadamente 4.2×10^6, y un coeficiente de velocidad de sedimentación de 80S (S = unidades Svedberg, un parámetro sensible al tamaño y la forma moleculares). El ribosoma de mamífero contiene dos subunidades nucleoproteínicas principales, una de mayor tamaño con un peso molecular de 2.8×10^6 (60S), y una subunidad de menor tamaño con un peso molecular de 1.4×10^6 (40S). La subunidad 60S contiene un RNA ribosómico (rRNA) 5S, un rRNA 5.8S, y un rRNA 28S; también hay más de 50 polipéptidos específicos. La subunidad 40S es de menor tamaño y contiene un rRNA 18S único, y alrededor de 30 cadenas polipeptídicas distintas. Todas las moléculas de RNA ribosómico, excepto el rRNA 5S, que se transcribe de modo independiente, se procesan a partir de una molécula de RNA precursora 45S única en el nucléolo (cap. 36). Las moléculas de RNA ribosómico muy metiladas están aglomeradas en el nucléolo con las proteínas ribosómicas específicas. En el citoplasma, los ribosomas permanecen bastante estables y capaces de muchos ciclos de traducción. No se entienden por completo las funciones precisas de las moléculas de RNA ribosómico en la partícula ribosómica, pero son necesarias para el montaje ribosómico, y desempeñan también funciones clave en la unión de mRNA a ribosomas y su traducción. Estudios recientes indican que el componente de rRNA grande realiza la actividad de peptidil transferasa y, así, es una ribozima. Los RNA ribosómicos (28S + 18S) representan a grandes rasgos 70% del RNA celular total.

RNA pequeño

En las células eucarióticas se encuentra gran número de especies de RNA separadas, muy conservadas, y pequeñas; algunas son bastante estables. Casi todas estas moléculas forman complejos con proteínas para constituir ribonucleoproteínas, y están distribuidas en el núcleo, el citoplasma, o ambos. Su tamaño varía de 20 a 1 000 nucleótidos, y están presentes en 100 000 a 1 000 000 de copias por célula, lo que representa en conjunto ≤5% del RNA celular.

RNA nucleares pequeños (snRNA)

Los snRNA, un subgrupo de los RNA pequeños (cuadro 34-1), participan de manera importante en el procesamiento de rRNA y mRNA, y en la regulación de gen. De los varios snRNA, los U1, U2, U4, U5 y U6 participan en la eliminación de intrón y en el procesamiento de precursores de mRNA hacia mRNA (cap. 36). El snRNA U7 participa en la producción de los extremos 3′ correctos del mRNA histona, que carece de una cola poli(A). El RNA 7SK se asocia con varias proteínas para formar un complejo de ribonucleoproteína, denominado P-TEFb, que modula el alargamiento de la transcripción de gen de mRNA por la RNA polimerasa II (cap. 36).

Micro-RNA, miRNA, y pequeños RNA, siRNA que interfieren, y RNA no codificador

Uno de los descubrimientos más interesantes e inesperados en el transcurso del último decenio de la biología reguladora eucarió-

CUADRO 34–2 Componentes de ribosomas de mamífero

		Proteína		RNA		
Componente	**Masa (MW)**	**Número**	**Masa**	**Tamaño**	**Masa**	**Bases**
Subunidad 40S	1.4×10^6	33	7×10^5	18S	7×10^5	1 900
Subunidad 60S	2.8×10^6	50	1×10^6	5S	3.5×10^4	120
				5.8S	4.5×10^4	160
				28S	1.6×10^6	4 700

Nota: las subunidades ribosómicas se definen de acuerdo con su velocidad de sedimentación en unidades Svedberg (**S**) (40S o 60S). Se listan el número de proteínas singulares y su masa total (MW) y los componentes RNA de cada subunidad en tamaño (unidades Svedberg), masa y número.

tica fue la identificación y caracterización de miRNA, una clase de RNA pequeños que se encuentra en casi todos los eucariotas (cap. 38). Casi todos los **miRNA y siRNA** conocidos **originan inhibición de la expresión de gen** al aminorar la producción de proteína específica, si bien mediante distintos mecanismos. Los miRNA típicamente tienen 21 a 25 nucleótidos de largo, y se generan por medio de procesamiento nucleolítico de los productos de unidades de genes/transcripción separadas (figura 36-17). Los precursores del miRNA son monocatenarios, pero tienen estructura secundaria intramolecular extensa. El tamaño de estos precursores varía desde aproximadamente 500 hasta 1 000 nucleótidos; **es característico que los miRNA** maduros procesados pequeños **se hibriden, mediante la formación de dúplex de RNA-RNA imperfectos dentro de las regiones 3′-no traducidas** (3′UTR; figura 38-19) de mRNA blanco específicos, **lo que lleva, por medio de mecanismos que se entienden poco, a paro de la traducción**. Hasta la fecha, se han descrito cientos de miRNA distintos en seres humanos; los estimados sugieren que hay ~1 000 genes que codifican para miRNA en seres humanos. Al igual que con los miRNA, los siRNA se derivan de la división nucleolítica específica de RNA de mayor tamaño para formar de nuevo productos pequeños, de 21 a 25 nucleótidos de largo. Estos **siRNA** cortos por lo general **forman híbridos RNA-RNA perfectos** con sus blancos separados, en potencia en cualquier sitio dentro de la longitud del mRNA donde existe la secuencia complementaria. La formación de esos dúplex RNA-RNA entre siRNA y mRNA causa producción reducida de proteína específica porque una maquinaria nucleolítica dedicada **degrada los complejos de siRNA-mRNA**; parte de esta degradación de mRNA, o toda, sucede en organelos citoplásmicos específicos llamados **cuerpos P** (figura 37-11). Dada su especificidad genética exquisita, tanto los miRNA como los siRNA representan interesantes nuevos **blancos potenciales para la creación de fármacos terapéuticos**. Además, los siRNA suelen usarse para disminuir o “noquear” (“*knock-down*”) concentraciones de proteínas específicas (por medio de degradación de mRNA dirigida hacia homología de siRNA) en contextos experimentales en el laboratorio, una alternativa en extremo útil y potente para la tecnología de deleción de gen (cap. 39).

Otro descubrimiento reciente e interesante en el campo del RNA es la identificación y caracterización de **RNA no codificadores**, o **ncRNA, largos**. El tamaño de los ncRNA largos que, como su nombre lo indica, no codifican para proteína, varía desde ~300 hasta miles de nucleótidos de largo; estos RNA típicamente se transcriben a partir de las regiones grandes de genomas eucariontes que no codifican para proteína. De hecho, análisis del transcriptoma por medio de la tecnología de secuenciación de siguiente generación (cap. 39) indican que **>90% del DNA genómico eucarionte es transcrito**. Los ncRNA constituyen una porción importante de esta transcripción. Los ncRNA desempeñan muchos papeles que varían desde contribuir a los aspectos estructurales de la cromatina, hasta la regulación de la transcripción de gen que codifica para mRNA por la RNA polimerasa II. Investigación futura caracterizará más esta importante nueva clase de moléculas de RNA.

Despierta interés que las bacterias también contienen RNA reguladores heterogéneos pequeños denominados sRNA. El tamaño de los sRNA bacterianos varía desde 50 hasta 500 nucleótidos, y al igual que los mi/siRNA eucarióticos también controlan una gama grande de genes. De modo similar, los sRNA a menudo reprimen, pero en ocasiones activan, la síntesis de proteína al unirse a mRNA específico.

NUCLEASAS ESPECÍFICAS DIGIEREN ÁCIDOS NUCLEICOS

Durante muchos años se han reconocido enzimas que tienen la capacidad de degradar ácidos nucleicos; tales nucleasas pueden clasificarse de varias maneras. Las que muestran especificidad por el DNA reciben el nombre de **desoxirribonucleasas**. Las que hidrolizan de modo específico RNA son las **ribonucleasas**. Algunas nucleasas degradan tanto el DNA como el RNA. Dentro de estas clases hay enzimas que tienen la capacidad de dividir enlaces fosfodiéster internos para producir terminales 3′-hidroxilo y 5′-fosforilo, o terminales 5′-hidroxilo y 3′-fosforilo, las cuales se denominan **endonucleasas**. Algunas tienen la capacidad de hidrolizar ambas cadenas de una molécula **bicatenaria**, mientras que otras sólo pueden dividir **cadenas únicas** de ácidos nucleicos. Algunas nucleasas sólo pueden hidrolizar cadenas únicas no pareadas, mientras que otras son capaces de hidrolizar cadenas únicas que participan en la formación de una molécula bicatenaria. Hay clases de endonucleasas que reconocen secuencias específicas en el DNA; casi todas éstas son las **endonucleasas de restricción**, que en los últimos años se han convertido en instrumentos importantes en genética molecular y ciencias médicas. El cuadro 39-2 presenta una lista de algunas de las endonucleasas de restricción reconocidas en la actualidad.

Ciertas nucleasas tienen la capacidad de hidrolizar un nucleótido únicamente si está presente en una terminal de una molécula; éstas se llaman **exonucleasas**, y sólo actúan en una dirección (3′ → 5′ o 5′ → 3′). En bacterias, una exonucleasa 3′ → 5′ es una parte integral de la maquinaria de replicación de DNA, y ahí sirve para editar —o corregir pruebas— del desoxinucleótido añadido más recientemente respecto a errores de la formación de pares de bases.

RESUMEN

- El DNA consta de cuatro bases —A, G, C y T— que se mantienen en disposición lineal mediante enlaces fosfodiéster a través de las posiciones 3′ y 5′ de porciones desoxirribosa adyacentes.
- El DNA se organiza en dos cadenas por medio de la formación de pares de bases A a T y G a C en cadenas complementarias. Estas cadenas forman una doble hélice alrededor de un eje central.
- Los 3×10^9 pares de bases del DNA en seres humanos están organizados hacia el complemento haploide de 23 cromosomas. La secuencia exacta de estos 3 000 000 000 de nucleótidos define la singularidad de cada individuo.
- El DNA proporciona una plantilla para su propia replicación y, así, mantenimiento del genotipo, y para la transcripción de los aproximadamente 25 000 genes del ser humano que codifican para proteínas, así como una gama grande de RNA reguladores no codificadores de proteína.
- El RNA existe en varias estructuras monocatenarias diferentes, la mayor parte de las cuales participa de modo directo o indirecto en la síntesis de proteína o en su regulación. La disposición lineal

de nucleótidos en el RNA consta de A, G, C y U, y la parte azúcar es ribosa.

- Las principales formas de RNA son el mensajero (mRNA), ribosómico (rRNA), de transferencia (tRNA), y RNA nucleares pequeños (snRNA; miRNA). Ciertas moléculas de RNA actúan como catalíticos (ribozimas).

REFERENCIAS

Chapman EJ, Carrington JC: Specialization and evolution of endogenous small RNA pathways. Nature Rev Genetics 2007;8:884.

Costa FF: Non-coding RNAs: meet thy masters. Bioessays 2010;32:599–608.

Dunkle JA, Cate JH: Ribosome structure and dynamics during translation. Annu Rev Biophys 2010;39:227–244.

Green R, Noller HF: Ribosomes and translation. Annu Rev Biochem 1997;66:689.

Guthrie C, Patterson B: Spliceosomal snRNAs. Ann Rev Genet 1988;22:387.

Keene JD: Minireview: global regulation and dynamics of ribonucleic acid. Endocrinology 2010;151:1391–1397.

Loewer S, Cabili MN, Guttman M, et al: Large intergenic non-coding RNA–RoR modulates reprogramming of human induced pluripotent stem cells. Nat Genet 2010;42:1113–1137.

Moore M: From birth to death: the complex lives of eukaryotic mRNAs. Science 2005;309:1514.

Narla A, Ebert BL: Ribosomopathies: human disorders of ribosome dysfunction. Blood 2010;115:3196–3205.

Phizicky EM, Hopper AK: tRNA biology charges to the front. Genes Devlop 2010;24:1832–1860.

Wang G-S, Cooper TA: Splicing in disease: disruption of the splicing code and the decoding machinery. Nature Rev Genetics 2007;8:749.

Watson JD, Crick FHC: Molecular structure of nucleic acids. Nature 1953;171:737.

Watson JD: *The Double Helix.* Atheneum, 1968.

Watson JD, Baker TA, Bell SP, et al: *Molecular Biology of the Gene,* 6th ed. Benjamin-Cummings, 2007.

CAPÍTULO 35

Organización, replicación y reparación del DNA

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Apreciar que aproximadamente 3×10^9 pares de bases de DNA que componen el genoma haploide de seres humanos están divididos de manera singular entre 23 unidades de DNA lineales, los cromosomas. Los seres humanos, al ser diploides, tienen 23 pares de cromosomas: 22 autosomas y dos cromosomas sexuales.
- Entender que el DNA genómico del ser humano, si se extiende de un extremo a otro, mediría metros de longitud; aun así, cabe dentro del núcleo de la célula, un orgánulo de sólo micrómetros (μm; 10^{-6} m) de diámetro. Esa condensación de la longitud del DNA es inducida siguiendo su asociación con las proteínas histona con carga altamente positiva que da lugar a la formación de un complejo de DNA-histona singular llamado nucleosoma. Los nucleosomas tienen DNA envuelto alrededor de la superficie de un octámero de histonas.
- Explicar que las cadenas de nucleosomas se forman a lo largo de la secuencia lineal de DNA genómico para formar cromatina, que por sí misma puede estar más estrechamente aglomerada y condensada, lo que finalmente lleva a la formación de los cromosomas.
- Apreciar que si bien los cromosomas son las unidades funcionales macroscópicas para la recombinación del DNA, la clasificación de gen y la división celular, es la función del DNA en el ámbito de los nucleótidos individuales lo que compone las secuencias reguladoras enlazadas con genes específicos que son esenciales para la vida.
- Explicar los pasos, la fase del ciclo celular, y las moléculas de las cuales dependen la replicación, la reparación y la recombinación del DNA, y entender los efectos negativos de los errores en cualquiera de estos procesos sobre la integridad y la salud de la célula y del organismo.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA*

La información genética en el DNA de un cromosoma puede transmitirse por medio de replicación precisa, o se puede intercambiar a través de diversos procesos, entre ellos entrecruzamiento, recombinación, transposición y conversión. Éstos proporcionan un medio para asegurar la adaptabilidad y diversidad para el organismo pero, cuando estos procesos salen mal, también pueden dar por resultado enfermedad. Varios sistemas enzimáticos participan en la replicación, alteración y reparación del DNA. Las mutaciones se deben a un cambio de la secuencia de bases de DNA, y en ocasiones dependen de defectos de la replicación, el movimiento o la reparación del DNA, y ocurren con una frecuencia de alrededor de una en cada 10^6 divisiones celulares. A veces, las anormalidades en productos de gen (sea en el RNA, la función de proteína, o la cantidad) son el resultado de mutaciones que suceden en DNA codificador o de región reguladora. Una mutación en una célula germinal se transmite hacia la descendencia (la denominada transmisión vertical de enfermedad hereditaria). Diversos factores, entre ellos virus, sustancias químicas, luz ultravioleta y radiación ionizante, au-

* Hasta donde es posible, la exposición en este capítulo y los capítulos 36, 37 y 38 se referirá a organismos mamíferos, que figuran, por supuesto, entre los eucariotas superiores. En ocasiones será necesario hacer referencia a observaciones en organismos procarióticos, como bacterias y virus, o sistemas de modelo eucariótico inferior, como Drosophila, *C. elegans* o levadura; sin embargo, en esos casos la información que se presenta puede extrapolarse a organismos mamíferos.

mentan el índice de mutación. Las mutaciones suelen afectar células somáticas y, así, se transmiten hacia generaciones sucesivas de células, pero sólo dentro de un organismo (es decir, de modo horizontal). Cada vez es más claro que varias enfermedades —y tal vez casi todos los cánceres— se deben a los efectos combinados de la transmisión vertical de mutaciones, así como a la transmisión horizontal de mutaciones inducidas.

LA CROMATINA ES EL MATERIAL CROMOSÓMICO EN LOS NÚCLEOS DE CÉLULAS DE ORGANISMOS EUCARIÓTICOS

La cromatina consta de **moléculas de DNA** bicatenario muy largas **(dsDNA)**, y una masa casi igual de proteínas básicas más bien pequeñas llamadas **histonas**, así como una cantidad menor de **proteínas no histona** (la mayor parte de las cuales son ácidas y de mayor tamaño que las histonas), y una pequeña cantidad de **RNA**. Las proteínas no histona incluyen enzimas involucradas en la replicación y reparación del DNA, y las proteínas participantes en la síntesis, el procesamiento y el transporte hacia el citoplasma, del RNA. La hélice del dsDNA en cada cromosoma tiene una longitud que es miles de veces el diámetro del núcleo de la célula. Un propósito de las moléculas que comprenden la cromatina, en especial las histonas, es condensar el DNA. Sin embargo, es importante notar que las histonas también tienen una participación fundamental en la regulación de gen (caps. 36, 38 y 42), en efecto, las histonas contribuyen de manera importante a todas las transacciones moleculares dirigidas a DNA. En estudios de microscopia electrónica de cromatina se han demostrado partículas esféricas densas denominadas **nucleosomas**, que tienen alrededor de 10 nm de diámetro y están conectadas por medio de filamentos de DNA (**figura 35-1**). Los nucleosomas están compuestos de DNA envuelto alrededor de un conjunto de moléculas de histona.

Las histonas son las proteínas de cromatina más abundantes

Las histonas son una familia pequeña de proteínas básicas estrechamente relacionadas. Las **histonas H1** son las que están menos estrechamente unidas a la cromatina (**figuras 35-1, 35-2** y **35-3**) y, en consecuencia, se eliminan con facilidad con una solución salina, tras lo cual la cromatina se hace más soluble. La unidad organizacional de esta cromatina soluble es el nucleosoma. **Los nucleosomas contienen cuatro tipos de histonas: H2A, H2B, H3** y **H4** —las llamadas histonas centrales que forman el nucleosoma— cuya estructura se ha conservado mucho entre las especies, aunque existen variantes de las histonas y se han usado para propósitos especializados. Esta conservación extrema indica que la función de las histonas es idéntica en todos los eucariotas, y que toda la molécula participa de manera bastante específica en esta función. Los dos tercios carboxilo terminal de las moléculas de histona son hidrofóbicos, mientras que sus tercios amino terminal son en particular ricos en aminoácidos básicos. **Estas cuatro histonas centrales están sujetas a por lo menos seis tipos de modificación covalente de modificaciones postraduccionales (PTM):** acetilación, metilación, fosforilación, ADP-ribosilación, monoubiquitilación y sumoilación. Estas modificaciones de histonas tienen importancia en la estructura y la función de la cromatina (**cuadro 35-1**).

Las histonas interactúan entre sí de modos muy específicos. **H3 y H4 forman un tetrámero** que contiene dos moléculas de cada una $(H3\text{-}H4)_2$, mientras que **H2A y H2B forman dímeros** (H2A-H2B). En condiciones fisiológicas, estos oligómeros de histona se asocian para formar el **octámero de histonas** de la composición $(H3\text{-}H4)_2\text{-}(H2A\text{-}H2B)_2$.

El nucleosoma contiene histona y DNA

Cuando el octámero de histonas se mezcla con dsDNA en condiciones iónicas apropiadas, se forma el mismo modelo de difracción de rayos X que el que se observa en cromatina recién

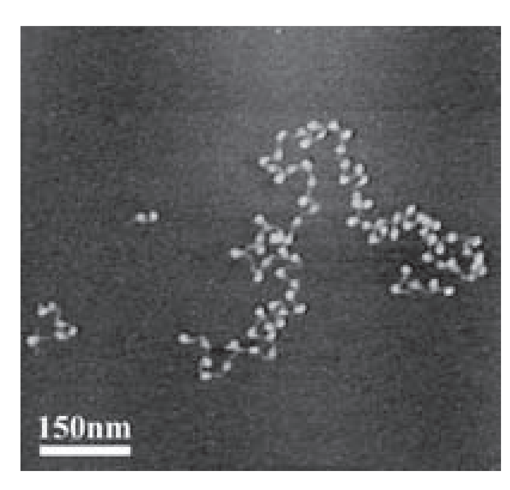


FIGURA 35–1 Micrografía electrónica de nucleosomas (esféricos, de color blanco) fijos a cadenas de DNA; véase la figura 35-2. (Reproducida, con autorización, de Shao Z. Probing nanometer structures with atomic force microscopy. News Physiol Sci, 1999; 14:142-149. Cortesía del profesor Zhifeng Shao, University of Virginia.)

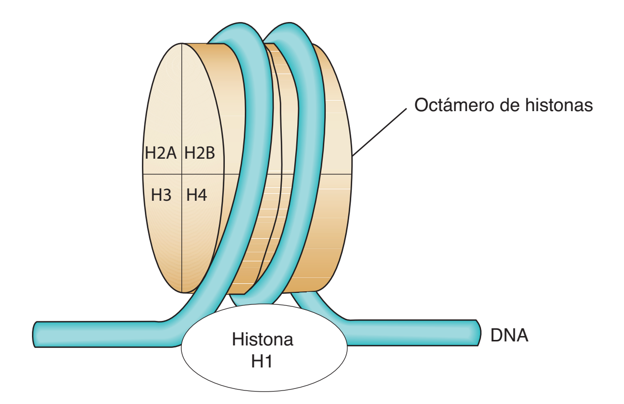


FIGURA 35–2 Modelo para la estructura del nucleosoma, en el cual el DNA está envuelto alrededor de la superficie de un cilindro proteínico plano que consta de dos de cada una de las histonas H2A, H2B, H3 y H4 que forman el octámero de histonas. Los ~145 pares de bases (bp) de DNA, que constan de 1.75 vueltas superhelicoidales, están en contacto con el octámero de histona. El óvalo en la parte inferior de la figura indica la posición de la histona H1, cuando está presente. La histona H1 interactúa con DNA conforme entra y sale del nucleosoma.

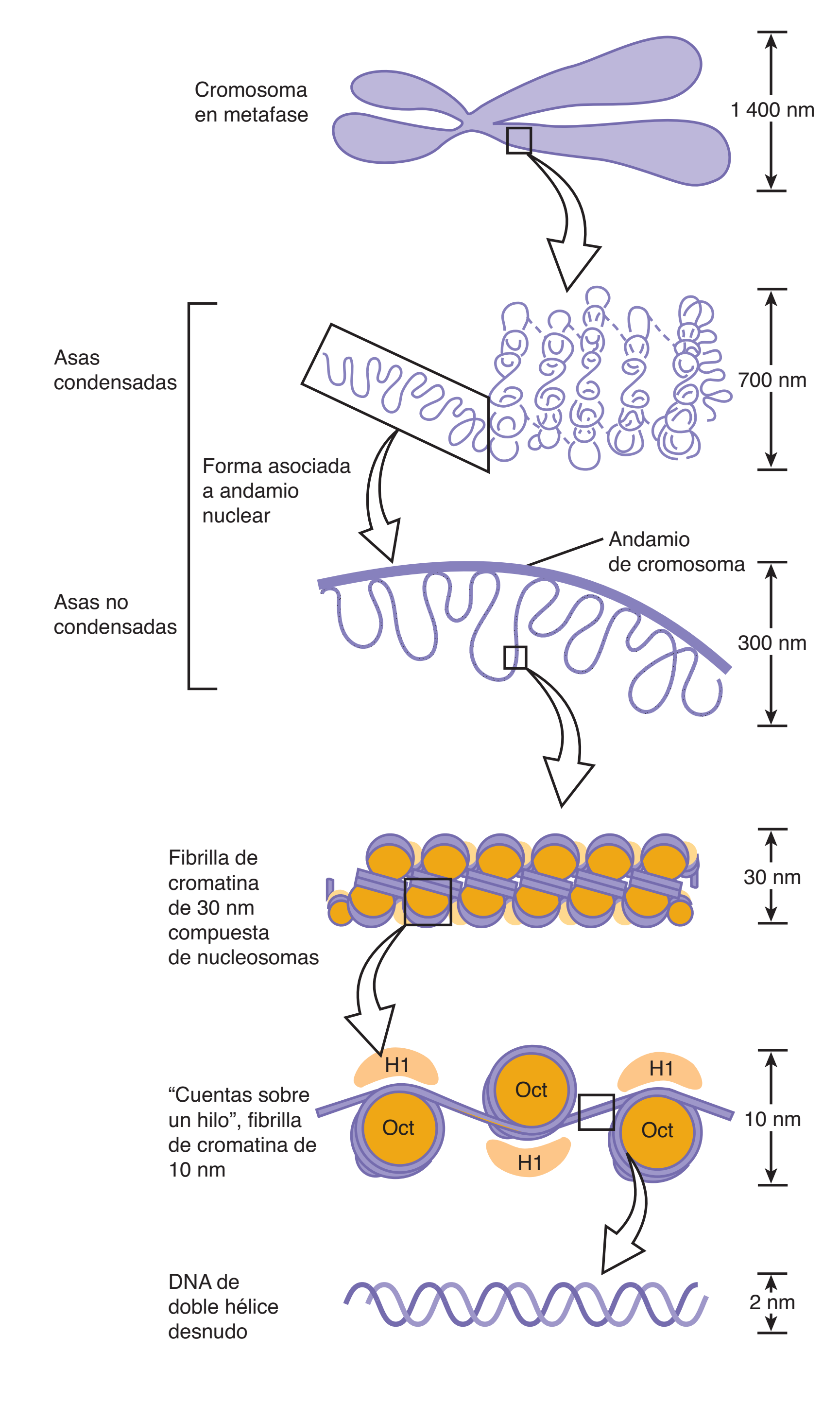


FIGURA 35–3 Se muestra la extensión de la aglomeración de DNA en cromosomas en metafase (arriba) a DNA dúplex desnudo (abajo). El DNA cromosómico está aglomerado y organizado en varios niveles como se muestra (cuadro 35-2). Cada fase de condensación o compactación y organización (de abajo a arriba) disminuye la accesibilidad general del DNA hasta un grado en que las secuencias de DNA en cromosomas en metafase son casi por completo inertes desde el punto de vista transcripcional. En total estos cinco niveles de compactación del DNA suscitan una disminución lineal 10^4 veces la longitud de un extremo a otro del DNA. La condensación y descondensación completas del DNA lineal en cromosomas ocurren en horas en el transcurso del ciclo celular replicativo normal (figura 35-20).

aislada. Estudios de microscopia electrónica confirman la existencia de nucleosomas reconstituidos. Además, la reconstitución de nucleosomas a partir del DNA e histonas H2A, H2B, H3 y H4 es independiente del origen de organismo o celular de los diversos componentes. Ni la histona H1 ni las proteínas no histona se requieren para la reconstitución del centro del nucleosoma.

En el nucleosoma, el DNA está superenrollado en una hélice siniestra sobre la superficie del octámero de histonas en forma de disco (figura 35-2). Casi todas las proteínas histona centrales interactúan con el DNA en el interior de la superhélice sin sobresalir, aun cuando las colas amino terminal de todas las histonas probablemente se extienden fuera de esta estructura y están disponibles para modificaciones covalentes reguladoras (cuadro 35-1).

El tetrámero $(H3\text{-}H4)_2$ en sí puede conferir propiedades parecidas a nucleosoma sobre el DNA y, de esta manera, tiene una función fundamental en la formación del nucleosoma. La adición de dos dímeros H2A-H2B estabiliza la partícula primaria y une firmemente dos medias vueltas adicionales de DNA previamente unidas sólo de modo laxo al $(H3\text{-}H4)_2$. De esta manera, 1.75 giros de superhélice de DNA están envueltos alrededor de la superficie del octámero de histonas, lo que protege 145-150 pares de bases (bp) de DNA y forma la partícula central del nucleosoma (figura 35-2). En la cromatina, las partículas centrales están separadas por una región de DNA de alrededor de 30 bp denominada **"enlazador"**. La mayor parte del DNA está en una serie repetitiva de estas estructuras, lo que da el llamado aspecto en "cuentas sobre un hilo" en la microscopia electrónica (figura 35-1).

CUADRO 35–1 Posibles funciones de histonas modificadas

1.	La acetilación de histonas H3 y H4 se relaciona con la activación o desactivación de la transcripción de gen.
2.	La acetilación de histonas centrales muestra vínculo con montaje cromosómico durante la replicación de DNA.
3.	La fosforilación de histona H1 se relaciona con la condensación de cromosomas durante el ciclo de replicación.
4.	La ADP-ribosilación de histonas muestra vínculo con reparación de DNA.
5.	La metilación de histonas se correlaciona con activación y represión de la transcripción de gen.
6.	La monoubiquitilación se relaciona con activación de gen, represión y silenciamiento de gen heterocromático.
7.	La sumoilación de histonas (SUMO; modificador vinculado con ubiquitina pequeño [*small ubiquitin-related modifier*]) se relaciona con represión de la transcripción.

El montaje de nucleosomas está mediado por uno de varios factores de montaje de cromatina nucleares facilitados por chaperones de histona, un grupo de proteínas que muestran unión de alta afinidad a histona. Conforme el nucleosoma se monta, las histonas se liberan de los chaperones de histona. Los nucleosomas muestran preferencia por ciertas regiones sobre moléculas de DNA específicas, pero la base de esta distribución no al azar, denominada **ajuste de fase**, aún no se entiende por completo. El ajuste de fase probablemente se relaciona con la flexibilidad física relativa de ciertas secuencias de nucleótido que tienen la capacidad para dar cabida a las regiones de acodamiento dentro de la superhélice, así como con la presencia de otros factores unidos a DNA que limitan los sitios de depósito de nucleosoma.

ESTRUCTURAS DE ORDEN SUPERIOR MANTIENEN COMPACTADA LA CROMATINA

La microscopia electrónica de la cromatina revela dos órdenes de estructura superiores —la fibrilla de 10 nm y la fibra de cromatina de 30 nm— más allá que la del nucleosoma mismo. La estructura del nucleosoma parecida a disco tiene 10 nm de diámetro y 5 nm de altura. La **fibrilla de 10 nm** consta de nucleosomas dispuestos con sus bordes separados por una distancia pequeña (30 bp de DNA) con sus caras planas paralelas al eje de la fibrilla (figura 35-3). La fibrilla de 10 nm probablemente está más superenrollada con 6 o 7 nucleosomas por cada vuelta, para formar la **fibra de cromatina de 30 nm** (figura 35-3). Cada giro de la superhélice es relativamente plano y las caras de los nucleosomas de vueltas sucesivas serían casi paralelas entre sí. Las histonas H1 parecen estabilizar la fibra de 30 nm, pero no están claras su posición ni la del DNA espaciador de longitud variable. Es probable que los nucleosomas puedan formar diversas estructuras aglomeradas. Para formar un cromosoma mitótico, la fibra de 30 nm debe compactarse en longitud otras 100 veces (véase más adelante).

En los **cromosomas en interfase**, las fibras de cromatina parecen estar organizadas hacia **asas o dominios** de 30 000 a 100 000 bp anclados en andamiaje (o matriz de sostén) dentro del núcleo, la llamada **matriz nuclear**. Dentro de estos dominios, algunas secuencias de DNA pueden estar ubicadas de modo no al azar. Se ha sugerido que cada dominio de cromatina en asa corresponde a una o más funciones genéticas separadas, que contienen regiones tanto codificadoras como no codificadoras del gen o los genes cognados. Esta estructura nuclear probablemente es dinámica y tiene importantes efectos sobre la regulación de gen. Datos recientes sugieren que ciertos genes o regiones de gen son móviles dentro del núcleo y que se mueven en forma obligatoria hacia *loci* separados dentro del núcleo en el momento de la activación. Investigación adicional determinará si éste es un fenómeno general, y de cuáles mecanismos moleculares depende.

ALGUNAS REGIONES DE LA CROMATINA SON “ACTIVAS” Y OTRAS SON “INACTIVAS”

En general, cada célula de un organismo metazoario individual contiene la misma información genética. Así, las diferencias entre los tipos de célula dentro de un organismo deben explicarse por expresión diferencial de la información genética común. Se ha mostrado que la cromatina que contiene genes activos (esto es, cromatina activa desde el punto de vista transcripcional, o en potencia activa desde dicho punto de vista) difiere en varios aspectos de la de regiones inactivas. La estructura de nucleosoma de la cromatina activa parece estar alterada, a veces de manera bastante extensa, en regiones muy activas. El DNA en cromatina activa contiene regiones grandes (de alrededor de 100 000 bases de largo) que son relativamente más **sensibles a la digestión por una nucleasa** como la DNasa I; esta última hace cortes de cadena única en casi cualquier segmento del DNA (es decir, especificidad baja de secuencia). Digerirá DNA que no está protegido, o unido a proteína, hacia los desoxinucleótidos que lo componen. La sensibilidad a DNasa I de regiones de cromatina activas refleja sólo un potencial para transcripción más que transcripción en sí y en varios sistemas puede correlacionarse con una falta relativa de la 5-metildesoxicitidina (meC) en el DNA y modificaciones covalentes de la histona particular o PTM (fosforilación, acetilación, etc.; cuadro 35-1).

Dentro de las regiones grandes de cromatina activa hay tramos más cortos, de 100 a 300 nucleótidos, que muestran una sensibilidad aún mayor (otras 10 veces) a la de DNasa I. Estos **sitios hipersensibles** probablemente se producen por una conformación estructural que favorece el acceso de la nucleasa al DNA; dichas regiones a menudo están localizadas justo torrente arriba del gen activo, y son la ubicación de estructura nucleosómica interrumpida por unión de proteínas factor de transcripción reguladoras no histona (caps. 36 y 38). En muchos casos, parece ser que si un gen tiene la capacidad de ser transcrito, muy a menudo tiene uno o varios sitios hipersensibles a DNasa en la cromatina justo torrente arriba. Como se mencionó, las proteínas reguladoras no histona involucradas en el control de la transcripción y las comprendidas en mantener acceso a la cadena

plantilla conducen a la formación de sitios hipersensibles. Esos sitios a menudo proporcionan el primer indicio respecto a la presencia y ubicación de un elemento de control de transcripción.

En contraste, la cromatina inactiva en el aspecto transcripcional está densamente aglomerada durante la interfaz, como se observa mediante estudios con microscopia electrónica, y se denomina **heterocromatina**; la cromatina activa desde el punto de vista transcripcional se colorea menos densamente, y se llama **eucromatina**. En general, la eucromatina se replica antes que la heterocromatina en el ciclo de células de mamífero (véase más adelante). La cromatina en estas regiones de inactividad suele tener contenido alto de meC, y las histonas allí contienen relativamente menos modificaciones covalentes.

Hay dos tipos de heterocromatina: constitutiva y facultativa. La **heterocromatina constitutiva** siempre está condensada y, de este modo, es en esencia inactiva. Se encuentra en las regiones cercanas al centrómero cromosómico y en terminaciones cromosómicas (telómeros). La **heterocromatina facultativa** en ocasiones está condensada, pero en otras se transcribe de manera activa y, así, no está condensada y aparece como eucromatina. De los dos miembros del par de cromosomas X en hembras de mamífero, un cromosoma X es casi por completo inactivo en el aspecto transcripcional, y es heterocromático. Empero, el cromosoma X heterocromático se descondensa en el transcurso de la gametogénesis y se torna activo desde el punto de vista transcripcional durante la embriogénesis temprana; de este modo, es heterocromatina facultativa.

Ciertas células de insectos, por ejemplo, *Chironomus* y *Drosophila*, contienen cromosomas gigantes que se han replicado durante múltiples ciclos sin separación de cromátides hijas. Estas copias de DNA se alinean lado a lado en el registro exacto, y producen un cromosoma con bandas que contiene regiones de cromatina condensada y bandas más claras de cromatina más extendida. Las regiones activas en el aspecto transcripcional de estos **cromosomas politeno** se descondensan en especial hacia **"abultamientos"** (*"puffs"*) que puede mostrarse que contienen las enzimas de las cuales depende la transcripción, y que son los sitios de síntesis de RNA (**figura 35-4**). Al usar sondas de hibridación marcadas con fluorescencia, muy sensibles, es posible "mapear" secuencias de gen específicas, o "pintarlas", dentro de los núcleos de células de ser humano, incluso sin formación del cromosoma politeno, usando técnicas de FISH (hibridación *in situ* fluorescente; cap. 39).

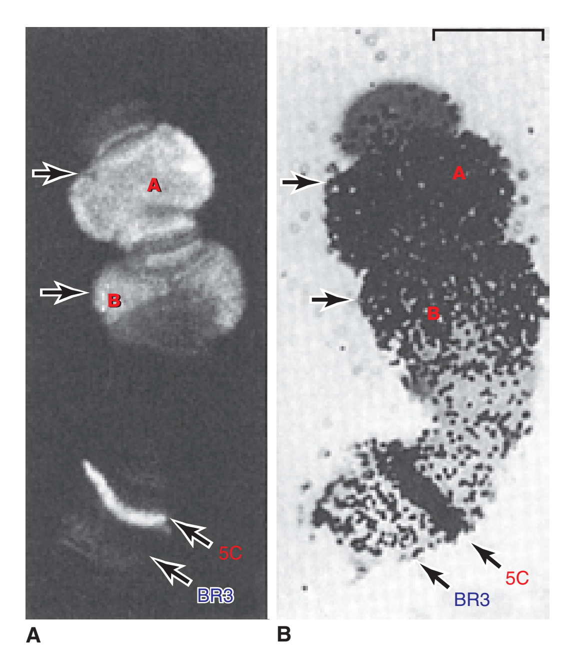


FIGURA 35–4 Ilustración de la estrecha correlación entre la presencia de RNA polimerasa II (cuadro 36-2) y la síntesis de RNA mensajero. Varios genes, marcados como A, B (arriba) y 5C, no así los genes en el *locus* (la banda) BR3 (5C, BR3, abajo) se activan cuando larvas de *Chironomus tentans* quedan sujetas a choque por calor (39°C durante 30 min). **(A)** Distribución de la RNA polimerasa II en el cromosoma IV aislado de la glándula salival (**en las flechas**). La enzima se detectó por medio de inmunofluorescencia usando un anticuerpo dirigido contra la polimerasa. El 5C y BR3 son bandas específicas del cromosoma IV, y las flechas indican los abultamientos. **(B)** Autorradiograma de un cromosoma IV que se incubó en ^{3}H-uridina para marcar el RNA. Note la correspondencia de la inmunofluorescencia y la presencia de RNA radiactivo (puntos negros). Barra = 7 μm. (Reproducida, con autorización, de Sass H: RNA polymerase B in polytene chromosomes. Cell 1982;28:274. Copyright ©1982. Reimpresa con autorización de Elsevier.)

EL DNA ESTÁ ORGANIZADO EN CROMOSOMAS

En el transcurso de la metafase, los **cromosomas** de mamífero poseen una simetría doble, con las **cromátides hermanas** duplicadas idénticas conectadas en un **centrómero**, cuya posición relativa es característica para un cromosoma dado (**figura 35-5**). El centrómero es una región rica en adenina-timina (A-T) que contiene secuencias de DNA repetidas que varían en tamaño desde 10^2 (levadura de cerveza) hasta 10^6 (mamíferos) pares de bases (bp). Los centrómeros de metazoario están unidos por nucleosomas que contienen la proteína variante histona H3 CENP-A y otras proteínas de unión a centrómero específicas. Este complejo, denominado **cinetocoro**, proporciona la fijación para el huso mitótico. De esta manera, es una estructura esencial para la segregación cromosómica durante la mitosis.

Los extremos de cada cromosoma contienen estructuras llamadas **telómeros**, que constan de repeticiones ricas en TG cortas. En seres humanos, los telómeros tienen un número variable de repeticiones de la secuencia 5′-TTAGGG-3′, que puede extenderse por varias kilobases. La **telomerasa**, un complejo que contiene plantillas de RNA de múltiples subunidades vinculado con DNA polimerasas dependientes de RNA virales (transcriptasas inversas), es la enzima que se encarga de la síntesis de telómero y, de este modo, de mantener la longitud del mismo. Dado que el acortamiento de telómero se ha relacionado tanto con transformación maligna como con envejecimiento, la enzima telomerasa se ha convertido en un blanco atractivo para la quimioterapia de cáncer y el desarrollo de fármacos. Cada cromátide hermana contiene una molécula de dsDNA (DNA bicatenario). Durante la interfase, la aglomeración de la molécula de DNA es menos densa que en el cromosoma condensado durante la metafase. Los cromosomas en metafase son casi por completo inactivos desde el punto de vista transcripcional.

El genoma haploide de seres humanos consta de alrededor de 3×10^9 bp, y alrededor de 1.7×10^7 nucleosomas. Así, cada

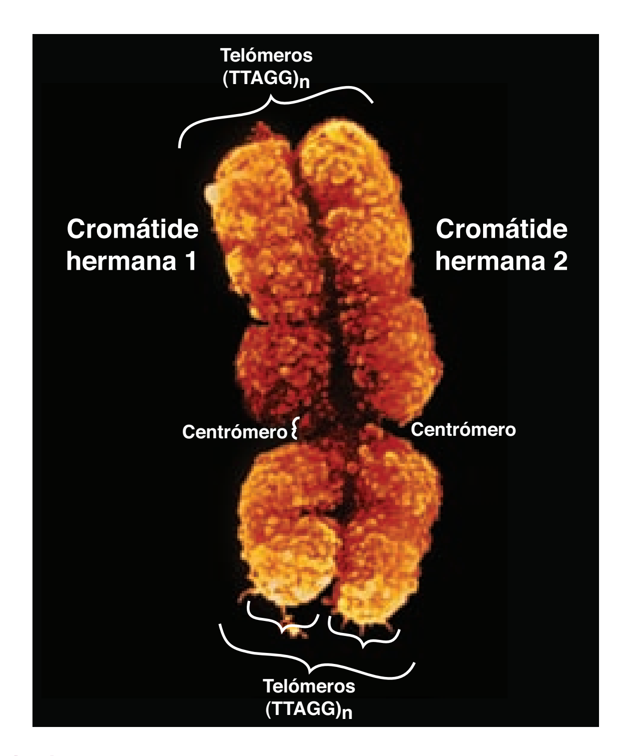


FIGURA 35–5 Las dos cromátides hermanas del cromosoma 12 de ser humano. La localización de la región centromérica rica en A+T que conecta las cromátides hermanas está indicada, al igual que dos de los cuatro telómeros que residen en los extremos mismos de las cromátides que están fijas una a la otra en el centrómero. (Cortesía de Biophoto Associates/Photo Researchers, Inc.)

una de las 23 cromátides en el genoma haploide humano contendría en promedio 1.3×10^8 nucleótidos en una molécula de dsDNA; por ende, la longitud de cada molécula de DNA debe comprimirse alrededor de 8 000 veces para generar la estructura de un cromosoma en metafase condensado. En cromosomas en metafase, las fibras de cromatina de 30 nm también están plegadas hacia una serie de **dominios en asa**, cuyas porciones proximales están fijas a un andamiaje de matriz nuclear proteináceo no histona dentro del núcleo (figura 35-3). El **cuadro 35-2** resume las proporciones de aglomeración de cada uno de los órdenes de estructura del DNA. La aglomeración de nucleoproteínas dentro de cromátides no es al azar, según queda de manifiesto por los modelos típicos observados cuando los cromosomas se tiñen con colorantes específicos, como tinción de quinacrina o Giemsa (**figura 35-6**).

CUADRO 35–2 Las proporciones de aglomeración de cada uno de los órdenes de estructura de DNA

Forma de cromatina	Proporción de aglomeración
DNA de doble hélice desnudo	~1.0
Fibrilla de 10 nm de nucleosomas	7 a 10
Fibrilla de cromatina de 30 nm de nucleosomas superhelicoidales	40 a 60
Cromosoma de asas en metafase condensado	8 000

De un individuo a otro dentro de una especie única, el modelo de tinción (bandeo) de la totalidad del cromosoma es muy reproducible; con todo, difiere de manera significativa entre las especies, incluso las que están muy relacionadas. De este modo, la aglomeración de nucleoproteínas en cromosomas de eucariotas superiores debe depender de alguna manera de características específicas para especie de las moléculas de DNA.

Una combinación de técnicas de coloración especializada y microscopia de alta resolución ha permitido a los citogenetistas “mapear” de modo bastante preciso muchos genes a regiones específicas de cromosomas de ratón y ser humano. Con la elucidación reciente de las secuencias del genoma de ser humano y de ratón (entre otras), ha quedado claro que muchos de estos métodos de mapeo visual son bastante exactos.

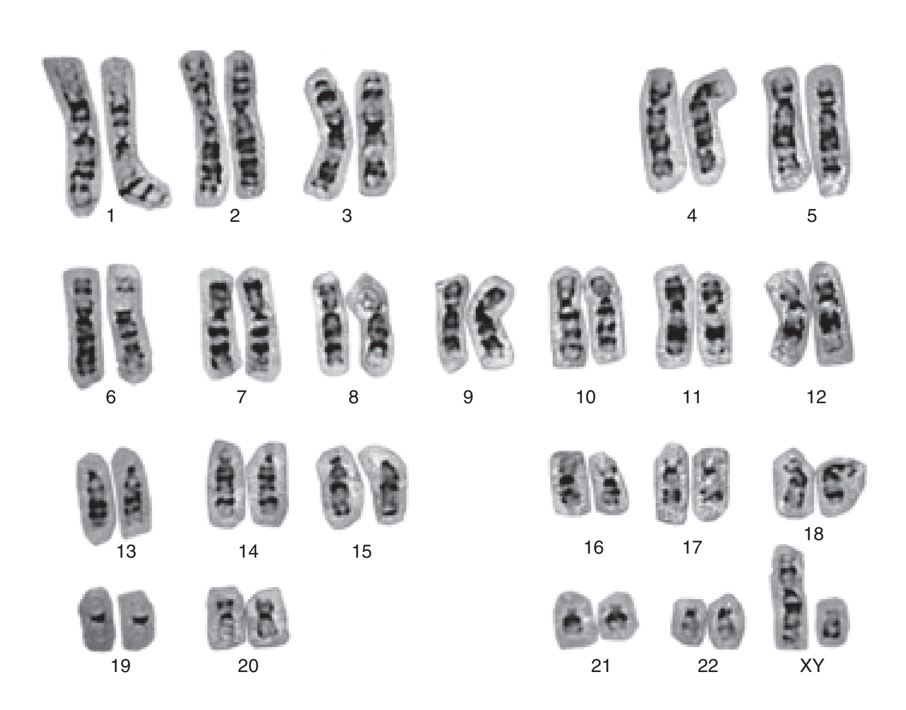


FIGURA 35–6 Un cariotipo de ser humano (de un hombre con una constitución 46,XY normal), en el cual los cromosomas en metafase se han teñido mediante el método de Giemsa y alineado de acuerdo con la Paris Convention. (Cortesía de H Lawce y F Conte.)

Las regiones codificadoras a menudo están interrumpidas por secuencias interpuestas

Las **regiones codificadoras de proteína del DNA**, cuyas transcripciones aparecen en el citoplasma como moléculas de mRNA únicas, por lo general están **interrumpidas en el genoma eucariótico por secuencias interpuestas grandes de DNA que no codifica para proteína**. Por consiguiente, las **transcripciones primarias del DNA, los precursores de mRNA** (en un inicio denominados **hnRNA** porque esta especie de RNA fue bastante heterogénea en tamaño [longitud] y en su mayor parte estaba restringida al núcleo), contienen secuencias de RNA interpuestas no codificadoras que deben eliminarse en un proceso que también junta los segmentos codificadores apropiados para formar el mRNA maduro. Casi todas las secuencias codificadoras para un mRNA único están interrumpidas en el genoma (y, de esta manera, en la transcripción primaria) por al menos una —y en algunos casos hasta 50— secuencia interpuesta no codificadora (**intrones**). Casi siempre, los intrones son mucho más largos que las regiones codificadoras (**exones**). El procesamiento de la transcripción primaria, que comprende eliminación precisa de intrones y empalme de los exones adyacentes, se describe con detalle en el capítulo 36.

La función de las secuencias interpuestas, o intrones, no está por completo clara; tal vez sirvan para separar dominios funcionales (exones) de información codificadora en una forma que permite que el reordenamiento genético por medio de recombinación suceda con mayor rapidez que si todas las regiones codificadoras para una función genética dada fueran contiguas. Ese índice incrementado de reordenamiento genético de dominios funcionales podría permitir una evolución más rápida de la función biológica. En algunos casos otras proteínas o RNA no codificadores están ubicados dentro del DNA intrónico de ciertos genes (cap. 34). En la **figura 35-7** se ilustran los vínculos entre DNA cromosómico, agrupaciones de gen en el cromosoma, la estructura de exón-intrón de genes, y el producto mRNA final.

GRAN PARTE DEL GENOMA DE MAMÍFERO PARECE REDUNDANTE Y GRAN PARTE NO SE TRANSCRIBE MUCHO

El genoma haploide de cada célula de ser humano consta de 3×10^9 pares de bases (bp) de DNA subdivididos en 23 cromosomas. El genoma haploide completo contiene suficiente DNA para codificar para cerca de 1.5 millones de genes de tamaño promedio. Aun así, estudios de índices de mutación y de las complejidades de los genomas de organismos superiores sugieren fuertemente que los seres humanos tienen mucho menos de 100 000 proteínas codificadas por ~1% del genoma humano que está compuesto de DNA exónico. De hecho, estimados actuales sugieren que hay 25 000 o menos genes codificadores de proteína en los seres humanos. Esto implica que casi todo el DNA es no codificador de proteína; es decir, su información nunca se traduce hacia una secuencia de aminoácidos de una molécula de proteína. Es cierto que algunas de las secuencias de DNA excesivas sirven para regular la expresión de genes en el transcurso del desarrollo, la diferenciación y la adaptación al ambiente, ya sea al servir como sitios de unión para proteínas reguladoras o al codificar para RNA reguladores (esto es, miRNA y ncRNA). Está claro que algo del exceso constituye las secuencias interpuestas o intrones (24% del genoma total del ser humano) que dividen las regiones de genes codificadoras, y otra porción del exceso parece estar compuesta de muchas familias de secuencias repetidas para las cuales todavía no se han definido funciones claras, aunque algunos RNA pequeños transcritos a partir de estas repeticiones pueden modular la transcripción, sea de manera directa al interactuar con la maquinaria de transcripción, o indirecta al afectar la actividad de la plantilla de cromatina. En el capítulo 39 se resumen las características sobresalientes del genoma humano. Es interesante que el ENCODE Project Consortium (cap. 39) ha mostrado que para el 1% del genoma estudiado, la mayor parte de la secuencia genómica de hecho se transcribió a un índice bajo. Investigación adicional elucidará la función o funciones de esas transcripciones.

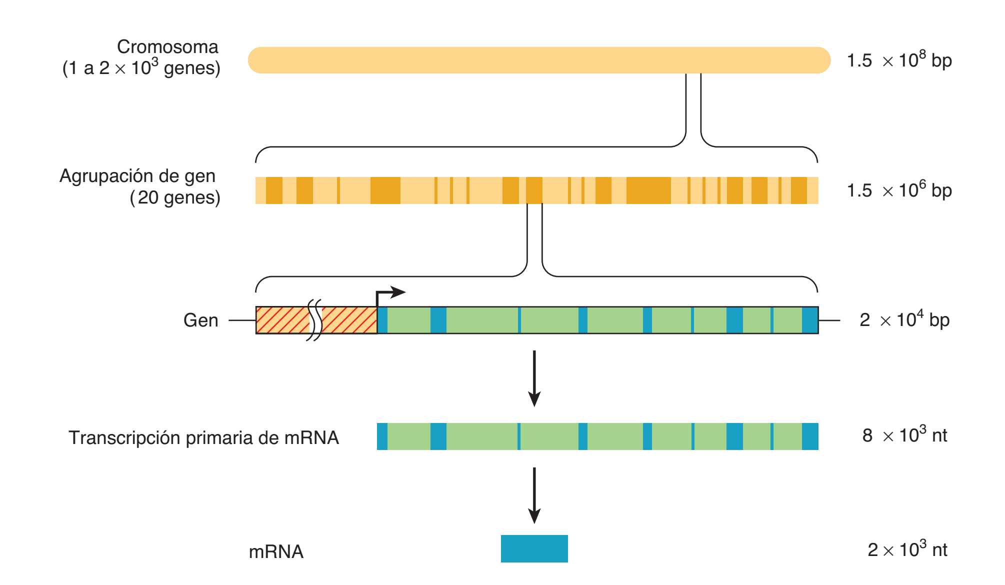


FIGURA 35-7 Las relaciones entre DNA y mRNA cromosómicos. La totalidad de DNA haploide humano de 3×10^9 pares de bases (bp) está distribuido entre 23 cromosomas. Los genes están agrupados en estos cromosomas. Un gen promedio tiene 2×10^4 bp de longitud, incluso la región reguladora (áreas rojas), que por lo general está localizada en el extremo 5′ del gen. La región reguladora se muestra aquí como adyacente al sitio de inicio de transcripción (flecha). Casi todos los genes eucarióticos tienen exones e intrones que alternan. En este ejemplo, hay nueve exones (áreas azules) y ocho intrones (áreas verdes). Los intrones se eliminan de la transcripción primaria por medio de las reacciones de procesamiento, y los exones se ligan juntos en secuencia para formar el mRNA maduro. (nt, nucleótidos.)

El DNA en un genoma eucariótico puede ser dividido en diferentes "clases de secuencia", a saber, DNA de secuencia única, o DNA no repetitivo y DNA de secuencia repetitiva. En el genoma haploide, el DNA de secuencia única por lo regular incluye los genes de copia única que codifican para proteínas. El DNA repetitivo en el genoma haploide comprende secuencias cuyo número de copias varía desde 2 hasta 10^7 por célula.

Más de la mitad del DNA en los organismos eucarióticos está en secuencias únicas o no repetitivas

Tal estimación (y la distribución del DNA de secuencias repetitivas) se basa en diversas técnicas de hibridación de DNA-RNA y, en fecha más reciente, en la secuenciación directa de DNA. Se usan técnicas similares para estimar el número de genes activos en una población de DNA de secuencia única. En la levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*, un eucariota inferior), alrededor de dos tercios de sus 6 200 genes se expresan, pero sólo ~1/5 se necesita para la viabilidad en condiciones de crecimiento en el laboratorio. En los tejidos típicos en un eucariota superior (p. ej., hígado y riñón de mamífero), entre 10 000 y 15 000 genes se expresan de modo activo. Diferentes combinaciones de genes se expresan en cada tejido, por supuesto, y cómo se logra esto es una de las principales preguntas sin respuesta en biología.

En el DNA de seres humanos, al menos 30% del genoma consta de secuencias repetitivas

El DNA de secuencia repetitiva se clasifica en términos generales como moderadamente repetitivo o como muy repetitivo. Las secuencias muy repetitivas constan de tramos de 5 a 500 pares de bases repetidos muchas veces en tándem. Estas secuencias suelen estar agrupadas en centrómeros y telómeros del cromosoma, y algunas están presentes en alrededor de 1 a 10 millones de copias por cada genoma haploide. Casi todas estas secuencias son inactivas en el aspecto transcripcional, y algunas tienen una función estructural en el cromosoma (figura 35-5; véase cap. 39).

Las secuencias moderadamente repetitivas, que se definen como estar presentes en números de menos de 10^6 copias por cada genoma haploide, no se encuentran agrupadas sino que están entremezcladas con secuencias únicas. En muchos casos, estas repeticiones entremezcladas largas son transcritas por la RNA polimerasa II, y contienen cubiertas indistinguibles de las que se encuentran en el mRNA.

Según su longitud, las secuencias moderadamente repetitivas se clasifican como **secuencias repetidas entremezcladas largas** (**LINE**, del inglés, *long interspersed repeat sequences*) o **secuencias repetidas entremezcladas cortas** (**SINE**, del inglés, *short interspersed repeat sequences*). Ambos tipos parecen ser **retroposones**, es decir, surgieron por movimiento desde una ubicación hacia otra (**transposición**) a través de un RNA intermediario mediante la acción de la transcriptasa inversa que transcribe una plantilla de RNA hacia DNA. Los genomas de mamífero contienen 20 000 a 50 000 copias de las LINE de 6 a 7 kbp, las cuales representan familias de elementos repetidos específicas para especie. Las SINE son más cortas (70 a 300 bp) y llegan hasta más de 100 000 copias por cada genoma. De las SINE en el genoma humano, una familia, la **familia Alu**, está presente en alrededor de 500 000 copias por cada genoma haploide y explica ~10% del genoma humano. Los miembros de la familia Alu humana y sus análogos estrechamente relacionados en otros animales se transcriben como componentes integrales de precursores de mRNA o moléculas de RNA separadas, incluso los bien estudiados RNA 4.5S y RNA 7S. Estos miembros de la familia particulares están muy conservados dentro de una especie, así como entre especies de mamíferos. Los componentes de las repeticiones entremezcladas cortas, incluso los miembros de la familia Alu, pueden ser elementos móviles, capaces de saltar hacia adentro y hacia afuera de diversos sitios dentro del genoma (véase más adelante). Estos eventos de transposición llegan a tener resultados desastrosos, como se ejemplifica por la inserción de secuencias Alu hacia un gen que, cuando queda así mutado, origina neurofibromatosis. Además, se ha mostrado que los RNA SINE (elemento intercalado corto) Alu, B1 y B2 regulan la producción de mRNA en los ámbitos de transcripción y de empalme de mRNA.

Secuencias repetidas de microsatélite

Una categoría de secuencias repetidas existe como disposiciones en tándem tanto dispersas como agrupadas. Las secuencias constan de 2 a 6 bp repetidas hasta 50 veces. Estas **secuencias de microsatélite** se encuentran con mayor frecuencia como repeticiones de dinucleótido de AC en una cadena, y TG en la cadena opuesta, pero se encuentran varias otras formas, entre ellas CG, AT y CA. Las secuencias repetidas AC ocurren en 50 000 a 100 000 ubicaciones en el genoma. En cualquier *locus*, el número de estas repeticiones puede variar en los dos cromosomas, lo que proporciona heterocigosidad del número de copias de un número de microsatélite particular en un individuo. Se trata de un rasgo hereditario, y debido a su número y a la facilidad para detectarlas usando la **reacción en cadena de polimerasa** (**PCR**) (cap. 39), esas repeticiones son útiles para construir mapas de enlace genético. Casi todos los genes muestran vínculo con uno o más marcadores microsatélite, de manera que es posible evaluar la posición relativa de genes en cromosomas, al igual que la relación de un gen con una enfermedad. Usando PCR, un gran número de miembros de la familia se puede investigar con rapidez para un cierto **polimorfismo de microsatélite**. La asociación de un polimorfismo específico con un gen en miembros de una familia afectados —y la ausencia de este vínculo en miembros no afectados— puede ser el primer indicio en cuanto a la base genética de una enfermedad.

Las secuencias de trinucleótido que aumentan de número (inestabilidad de microsatélite) pueden causar enfermedad. La secuencia de repetición $p(CGG)_n$ inestable se relaciona con el síndrome de X frágil. Otras repeticiones de trinucleótido que pasan por mutación dinámica (por lo general un incremento) muestran vínculo con corea de Huntington (CAG), distrofia miotónica (CTG), atrofia muscular espinobulbar (CAG) y enfermedad de Kennedy (CAG).

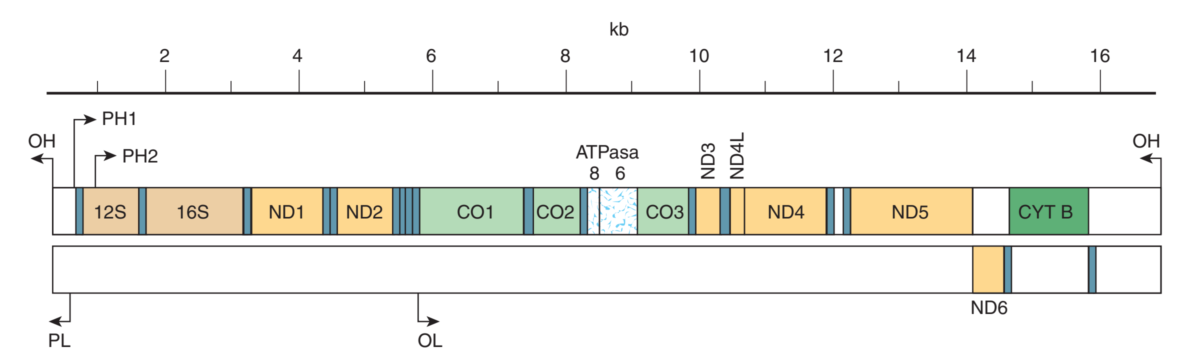


FIGURA 35–8 Mapas de genes mitocondriales de ser humano. Los mapas representan las cadenas llamadas pesada (cadena superior) y ligera (mapa inferior) de DNA mitocondrial (mt) proyectado en forma lineal, que muestra los genes para las subunidades de NADH-coenzima Q oxidorreductasa (ND1 a ND6), citocromo *c* oxidasa (CO1 a CO3), citocromo *b* (CYT B) y ATP sintasa (ATPasa 8 y 6) y para los mt rRNA ribosómicos 12S y 16S. Los RNA de transferencia están denotados mediante cuadros de color azul pequeños. El origen de la replicación de cadena pesada (OH) y cadena ligera (OL) y los promotores para el inicio de transcripción de cadena pesada (PH1 y PH2) y cadena ligera (PL) se indica por medio de flechas. (Reproducida, con autorización, de Moraes CT *et al.*: Mitochondrial DNA deletions in progressive external ophthalmoplegia and Kearns-Sayre syndrome. N Engl J Med 1989;320:1293. Copyright ©1989. Massachusetts Medical Society. Todos los derechos reservados.)

UNO POR CIENTO DEL DNA CELULAR ESTÁ EN MITOCONDRIAS

Casi todos los péptidos en mitocondrias (alrededor de 54 de 67) están codificados por genes nucleares, en tanto que el resto está codificado por genes que se encuentran en DNA mitocondrial (mt). En el ser humano, las mitocondrias contienen 2 a 10 copias de una pequeña molécula de dsDNA circular que constituye alrededor de 1% del DNA celular total. Este mtDNA codifica para RNA ribosómico y de transferencia específicos para mt, y para 13 proteínas que desempeñan funciones clave en la cadena respiratoria (cap. 13). La **figura 35-8** muestra el mapa estructural linealizado de los genes mitocondriales de ser humano. El **cuadro 35-3** lista algunas de las características del mtDNA.

CUADRO 35–3 Características importantes del DNA mitocondrial de ser humano

• Es circular, bicatenario, y está compuesto de cadenas pesadas (H) y ligeras (L)
• Contiene 16 569 bp
• Codifica para 13 subunidades proteínicas de la cadena respiratoria (de un total de alrededor de 67) Siete subunidades de NADH deshidrogenasa (complejo I) Citocromo *b* del complejo III Tres subunidades de citocromo oxidasa (complejo IV) Dos subunidades de ATP sintasa
• Codifica para RNA ribosómicos grande (16S) y pequeño (12S)
• Codifica para 22 moléculas de tRNA mt
• El código genético difiere un poco del código estándar UGA (codón de detención estándar) se lee como Trp AGA y AGG (codones estándar para Arg) se leen como codones de detención
• Contiene muy pocas secuencias no traducidas
• Índice de mutación alto (5 a 10 veces el del DNA nuclear)
• Las comparaciones de secuencias de mtDNA proporcionan evidencia acerca de los orígenes evolutivos de primates y otras especies

Fuente: Adaptado de Harding AE: Neurological disease and mitochondrial genes. Trends Neurol Sci 1991;14:132. Copyright ©1991. Reimpreso con autorización de Elsevier.

Una característica importante del mtDNA mitocondrial de ser humano es que —puesto que el huevo contribuye con todas las mitocondrias durante la formación del cigoto— se transmite por herencia no mendeliana materna. De este modo, en enfermedades que se producen por mutaciones del mtDNA, una madre afectada en teoría transmitiría la enfermedad a todos sus hijos, pero sólo sus hijas transmitirían el rasgo. Comoquiera que sea, en algunos casos, las deleciones en el mtDNA suceden durante la oogénesis y no se heredan desde la madre; de manera reciente ha quedado demostrado que varias enfermedades se deben a mutaciones del mtDNA; entre ellas están diversas miopatías, trastornos neurológicos y algunos casos de diabetes mellitus.

EL MATERIAL GENÉTICO SE PUEDE ALTERAR Y REORDENAR

Una alteración de la secuencia de bases purina y pirimidina en un gen debido a un cambio —una eliminación o una inserción— de una o más bases puede suscitar un producto de gen alterado. Esa alteración del material genético produce una **mutación** cuyas consecuencias se comentan con detalle en el capítulo 37.

La recombinación cromosómica es un modo de reordenar el material genético

La información genética puede intercambiarse entre cromosomas similares u homólogos. El intercambio, o evento de **recombinación**, se produce principalmente en el transcurso de la meiosis en células de mamífero, y requiere alineamiento de cromosomas en metafase homólogos, un alineamiento que casi siempre sucede con gran exactitud. Ocurre un proceso de entrecruzamiento (**figura 35-9**). Esto por lo general ocasiona un intercambio igual o recíproco de información genética entre cromosomas homólogos. Si los cromosomas homólogos poseen diferentes alelos de los mismos genes, el entrecruzamiento llega a producir diferencias de enlace genético notables y hereditarias. En el raro caso en el cual el alineamiento de cromosomas homólogos es impreciso, el evento de entrecruzamiento o recombinación

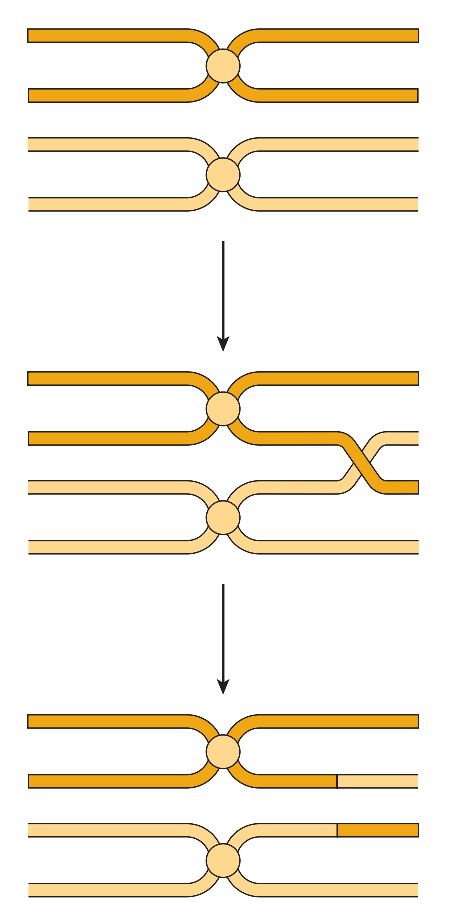


FIGURA 35–9 El proceso de entrecruzamiento entre cromosomas en metafase homólogos para generar cromosomas recombinantes. Véase también la figura 35-12.

puede traducirse en un intercambio desigual de información. Un cromosoma quizá reciba menos material genético y, así, una deleción, mientras que el otro miembro del par de cromosomas recibe más material genético y, de esta manera, una inserción o duplicación (figura 35-9). El entrecruzamiento desigual ocurre en seres humanos, según se demuestra por la existencia de hemoglobinas designadas Lepore y anti-Lepore (**figura 35-10**). Mientras más separadas están dos secuencias en un cromosoma individual, mayor es la probabilidad de un evento de recombinación por entrecruzamiento. Tal es la base de los métodos de mapeo genético. El **entrecruzamiento desigual** afecta disposiciones en tándem de DNA repetidos independientemente de si son genes que codifican para globina relacionados (figura 35-10) o DNA repetitivo más abundante. El entrecruzamiento desigual por deslizamiento en la formación de pares puede dar por resultado expansión o contracción del número de copias de la familia repetida, y contribuir a la expansión y fijación de miembros variantes en toda la disposición de repetición.

Ocurre integración cromosómica con algunos virus

Algunos virus bacterianos (bacteriófagos) tienen la capacidad de recombinarse con el DNA de un huésped bacteriano de tal modo que la información genética del bacteriófago se incorpora de una manera lineal hacia la del huésped. Esta integración, que es una forma de recombinación, sucede por medio del mecanismo que se ilustra en la **figura 35-11**. El esqueleto del genoma de bacteriófago circular se rompe, al igual que el de la molécula de DNA del huésped; los extremos apropiados se vuelven a sellar con la polaridad apropiada. El DNA del bacteriófago se endereza (“lineariza”) de modo figurativo, a medida que se integra en la molécula de DNA bacteriano, a menudo también un círculo cerrado. El sitio en el cual el genoma del bacteriófago se integra o se recombina con el genoma bacteriano se elige mediante uno de dos mecanismos. Si el bacteriófago contiene una secuencia de DNA **homóloga** a una secuencia en la molécula de DNA huésped, puede producirse un evento de recombinación análogo al que ocurre entre cromosomas homólogos. De cualquier manera, algunos bacteriófagos sintetizan proteínas que unen sitios específicos en cromosomas bacterianos a un sitio **no homólogo** característico de la molécula de DNA del bacteriófago. La integración sucede en el sitio y se dice que es **“específica para sitio”**.

Muchos virus de animales, en especial los virus oncogénicos —sea de modo directo o, en el caso de virus RNA como el HIV que origina de SIDA, sus transcripciones de DNA generadas por medio de la acción de la **DNA polimerasa dependiente de RNA** viral, o **transcriptasa inversa**— pueden integrarse hacia cromosomas de la célula de mamífero. La integración del DNA del virus de animal hacia el genoma del animal por lo general no es “específica para sitio” sino que despliega preferencias por sitio.

La transposición puede producir genes procesados

En células eucarióticas, elementos de DNA pequeños que claramente no son virus tienen la capacidad de transponerse ellos

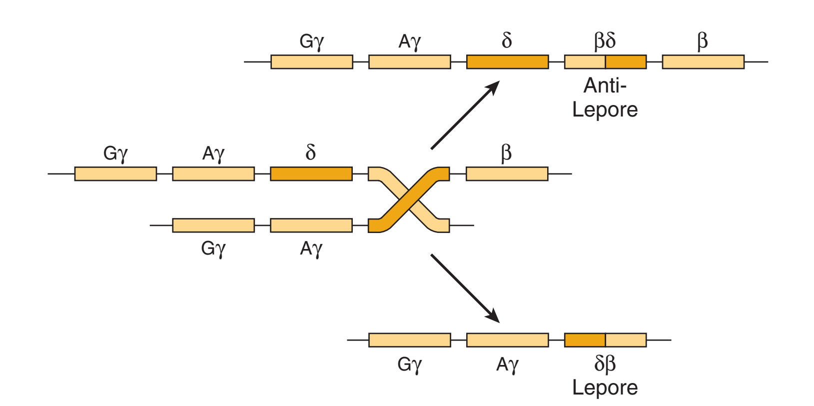


FIGURA 35–10 El proceso de entrecruzamiento desigual en la región del genoma de mamífero que alberga los genes estructurales que codifican para hemoglobinas y la generación de los productos recombinantes desiguales hemoglobina delta-beta Lepore y beta-delta anti-Lepore. Los ejemplos dados muestran las ubicaciones de las regiones de entrecruzamiento dentro de las regiones que codifican para aminoácidos de los genes indicados (genes de globina β y δ). (Redibujada y reproducida, con autorización, de Clegg JB, Weatherall DJ: β^0 Thalassemia: Time for a reappraisal? Lancet 1974;2:133. Copyright ©1974. Reimpresa con autorización de Elsevier.)

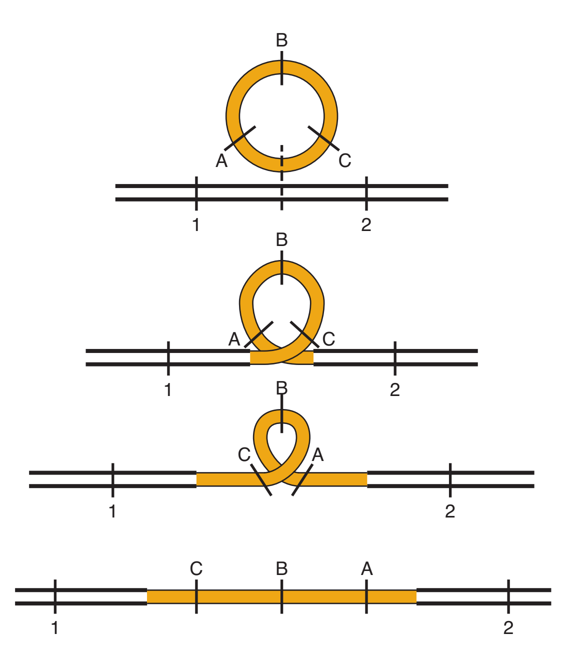


FIGURA 35–11 La integración de un genoma circular de un virus (con genes A, B y C) hacia la molécula de DNA de un huésped (con genes 1 y 2) y el ordenamiento consiguiente de los genes.



FIGURA 35–12 Intercambios de cromátide hermana entre cromosomas de ser humano, los cuales son detectables mediante tinción de Giemsa de los cromosomas de células replicadas durante dos ciclos en presencia de bromodesoxiuridina. Las flechas indican algunas regiones de intercambio. (Cortesía de S Wolff y J Bodycote.)

mismos hacia adentro y hacia afuera del genoma del huésped de manera que afectan la función de secuencias de DNA vecinas. Estos elementos móviles, a veces llamados **"DNA saltador"**, o genes saltadores, pueden portar regiones flanqueantes de DNA y, por tanto, afectar de manera profunda la evolución. Como se mencionó, la familia Alu de secuencias de DNA moderadamente repetidas tiene características estructurales similares a los términos de retrovirus, lo que explicaría la capacidad de estos últimos para entrar y salir del genoma de mamífero.

El descubrimiento de **"genes procesados"** para moléculas de inmunoglobulina, moléculas de α-globulina, y varias otras, ha proporcionado evidencia directa de la transposición de otros elementos de DNA pequeños hacia el genoma humano. Dichos genes procesados constan de secuencias de DNA idénticas o casi idénticas a las del RNA mensajero para el producto de gen apropiado. Así que la región 5′-no traducida, la región codificadora sin representación de intrón, y la cola 3′ poli(A) están presentes de modo contiguo. Este ordenamiento de secuencia de DNA particular debe haberse producido por la transcripción inversa de una molécula de RNA mensajero procesada de modo apropiado, de la cual las regiones intrón se habían eliminado y a la cual la cola poli(A) se había añadido. El único mecanismo reconocido que esta transcripción inversa podría haber usado para integrarse en el genoma habría sido un evento de transposición. De hecho, estos "genes procesados" tienen repeticiones terminales cortas en cada extremo, al igual que las secuencias transpuestas conocidas en organismos inferiores. En ausencia de su transcripción y, de esta manera, de selección genética para función, muchos de los genes procesados se han alterado al azar mediante evolución, de modo que ahora contienen codones sin sentido que eliminan su capacidad para codificar para una proteína funcional intacta (cap. 37). Así, se denominan **"seudogenes"**.

La conversión de gen produce reordenamientos

Además de entrecruzamiento desigual y transposición, un tercer mecanismo puede producir cambios rápidos en el material genético. Secuencias similares en cromosomas homólogos o no homólogos en ocasiones pueden parearse y eliminar cualquier secuencia desproporcionada entre ellas. Esto puede llevar a la fijación accidental de una variante u otra en toda una familia de secuencias repetidas y, de esta manera, homogeneizar las secuencias de los miembros de las familias de DNA repetitivo. Este último proceso se llama **conversión de gen**.

Cromátides hermanas se intercambian

En organismos eucarióticos diploides, como los seres humanos, después de que las células progresan por la fase S, tienen un contenido tetraploide de DNA, que se encuentra en la forma de cromátides hermanas de pares de cromosomas (figura 35-6). Cada una de estas cromátides hermanas contiene información genética idéntica dado que cada una es un producto de la replicación semiconservadora de la molécula de DNA madre original de ese cromosoma. Puede haber entrecruzamiento entre estas cromátides hermanas idénticas desde el punto de vista genético. Por supuesto, estos **intercambios de cromátides hermanas** (**figura 35-12**) carecen de consecuencias genéticas en tanto el intercambio sea el resultado de un entrecruzamiento igual.

Los genes que codifican para inmunoglobulina se reordenan

En células de mamífero, algunos reordenamientos de gen interesantes se producen en circunstancias normales durante el desa-

rrollo y la diferenciación. Por ejemplo, en ratones los genes V_L y C_L que codifican para una molécula de inmunoglobulina única (cap. 38) están ampliamente separados en el DNA de la línea germinal. En el DNA de una célula productora de inmunoglobulina (plasmática) diferenciada, los mismos genes V_L y C_L se han movido físicamente para acercarse en el genoma, y hacia la misma unidad de transcripción. No obstante, incluso entonces, este reordenamiento de DNA en el transcurso de la diferenciación no produce contigüidad de los genes V_L y C_L en el DNA. En lugar de eso, el DNA contiene una secuencia entremezclada o de interrupción de alrededor de 1 200 bp en la unión de las regiones V y C o cerca de la misma. La secuencia entremezclada se transcribe hacia RNA junto con los genes V_L y C_L, y la información entremezclada se elimina del RNA durante su procesamiento nuclear (caps. 36 y 38).

LA SÍNTESIS Y REPLICACIÓN DE DNA ESTÁN CONTROLADAS DE FORMA RÍGIDA

Queda claro que la función primaria de la replicación del DNA es el suministro de progenie con la información genética poseída por el progenitor. De este modo, la replicación del DNA debe ser completa y efectuarse de tal manera que mantenga estabilidad genética dentro del organismo y la especie. El proceso de replicación del DNA es complejo y comprende muchas funciones celulares y varios procedimientos de verificación para asegurar fidelidad en la replicación. Alrededor de 30 proteínas participan en la replicación del cromosoma de *Escherichia coli*, y este proceso es más complejo en organismos eucarióticos. Arthur Kornberg hizo las primeras observaciones enzimológicas acerca de replicación de DNA; describió en *E. coli* la existencia de una enzima ahora denominada DNA polimerasa I. Esta enzima tiene múltiples actividades catalíticas, una estructura compleja, y un requerimiento de los trifosfatos de los cuatro desoxirribonucleósidos de adenina, guanina, citosina y timina. La reacción de polimerización catalizada por la DNA polimerasa I de *E. coli* ha servido como prototipo para todas las DNA polimerasas tanto de procariotas como de eucariotas, aun cuando ahora se reconoce que la principal función de esta polimerasa es la corrección de pruebas y la reparación.

En todas las células, la replicación únicamente puede ocurrir a partir de una plantilla de DNA monocatenario (ssDNA). En consecuencia, debe haber mecanismos para dirigir el sitio de inicio de la replicación y para desenrollar el DNA bicatenario (dsDNA) en esa región. A continuación debe formarse el complejo de replicación. Luego de que se completa la replicación en un área, las cadenas madre e hija tienen que volver a formar dsDNA. En células eucarióticas se requiere un paso adicional. El dsDNA debe volver a formar la estructura de cromatina, incluso nucleosomas, que existió antes del inicio de la replicación. Aunque todo este proceso no se entiende por completo en células eucarióticas, la replicación se ha descrito con bastante exactitud en células procarióticas, y los principios generales son los mismos en ambas. Los principales pasos se listan en el **cuadro 35-4**, se ilustran en la **figura 35-13**, y se comentan, en secuencia, a continuación. Este proceso involucra varias proteínas, casi todas con acción enzimática específica (**cuadro 35-5**).

El origen de la replicación

En el **origen de replicación** (**ori**), hay una asociación de proteínas de unión a dsDNA específicas para secuencia, con una serie de secuencias de DNA repetidas directas. En el bacteriófago λ, el oriλ es unido por la proteína O codificada por λ a cuatro sitios adyacentes. En *E. coli*, el oriC es unido por la proteína dnaA. En ambos casos, se forma un complejo que consta de 150 a 250 bp de DNA y multímeros de la proteína de unión a DNA. Esto da pie a la desnaturalización y el desenrollado locales de una región de DNA rica en A+T. En células de levadura se han identificado **secuencias de replicación autónoma** (**ARS**) **o replicadores**, similares en el aspecto funcional. Las ARS contienen una secuencia de 11 bp un poco degenerada llamada **elemento de replicación de origen** (**ORE**). El ORE se une a un grupo de proteínas, análogas a la proteína dnaA de *E. coli*; el grupo de proteínas se denomina en conjunto **complejo de reconocimiento de origen** (**ORC**). Se han encontrado homólogos de ORC en todos los eucariotas examinados. El ORE está ubicado adyacente a una secuencia rica en A+T de unos 80 bp que es fácil de desenrollar, la cual recibe el nombre de **elemento de desenrollado de DNA** (**DUE**). El DUE es el origen de la replicación en levaduras, y es unido por el complejo de proteínas MCM.

En células de mamífero no se ha logrado un consenso en la definición precisa de secuencias similares en estructura a ori o ARS, aun cuando se han identificado varias de las proteínas que participan en el reconocimiento y la función de ori, y parecen bastante similares a sus homólogos en levaduras tanto en secuencia de aminoácidos como en función.

Desenrollado del DNA

La interacción de proteínas con ori define el sitio de inicio de la replicación, y proporciona una región corta de ssDNA esencial para el inicio de la síntesis de la cadena de DNA naciente. Este proceso necesita la formación de varias interacciones entre una proteína y otra, y entre proteína y DNA. Una DNA helicasa que permite el desenrollado procesivo de DNA proporciona un paso crítico. En *E. coli* no infectada, un complejo de dnaB helicasa y la proteína dnaC provee esta función. Proteínas de unión a DNA monocatenario (SSB) estabilizan este complejo. En *E. coli* infectada por fago λ, la proteína P del fago se une a dnaB, y el complejo de P/dnaB se une a oriλ al interactuar con la proteína O. La dnaB no es una helicasa activa cuando está en el complejo de P/dnaB/O. Tres proteínas de choque por calor de *E. coli* (dnaK,

CUADRO 35–4 Pasos comprendidos en la replicación de DNA en eucariotas

1.	Identificación de los orígenes de replicación
2.	Desenrollado (desnaturalización) de dsDNA para proporcionar una plantilla de ssDNA
3.	Formación de la horquilla de replicación; síntesis de preparador de RNA
4.	Inicio de la síntesis y el alargamiento de DNA
5.	Formación de burbujas de replicación con ligadura de los segmentos de DNA recién sintetizados
6.	Reconstitución de la estructura de cromatina

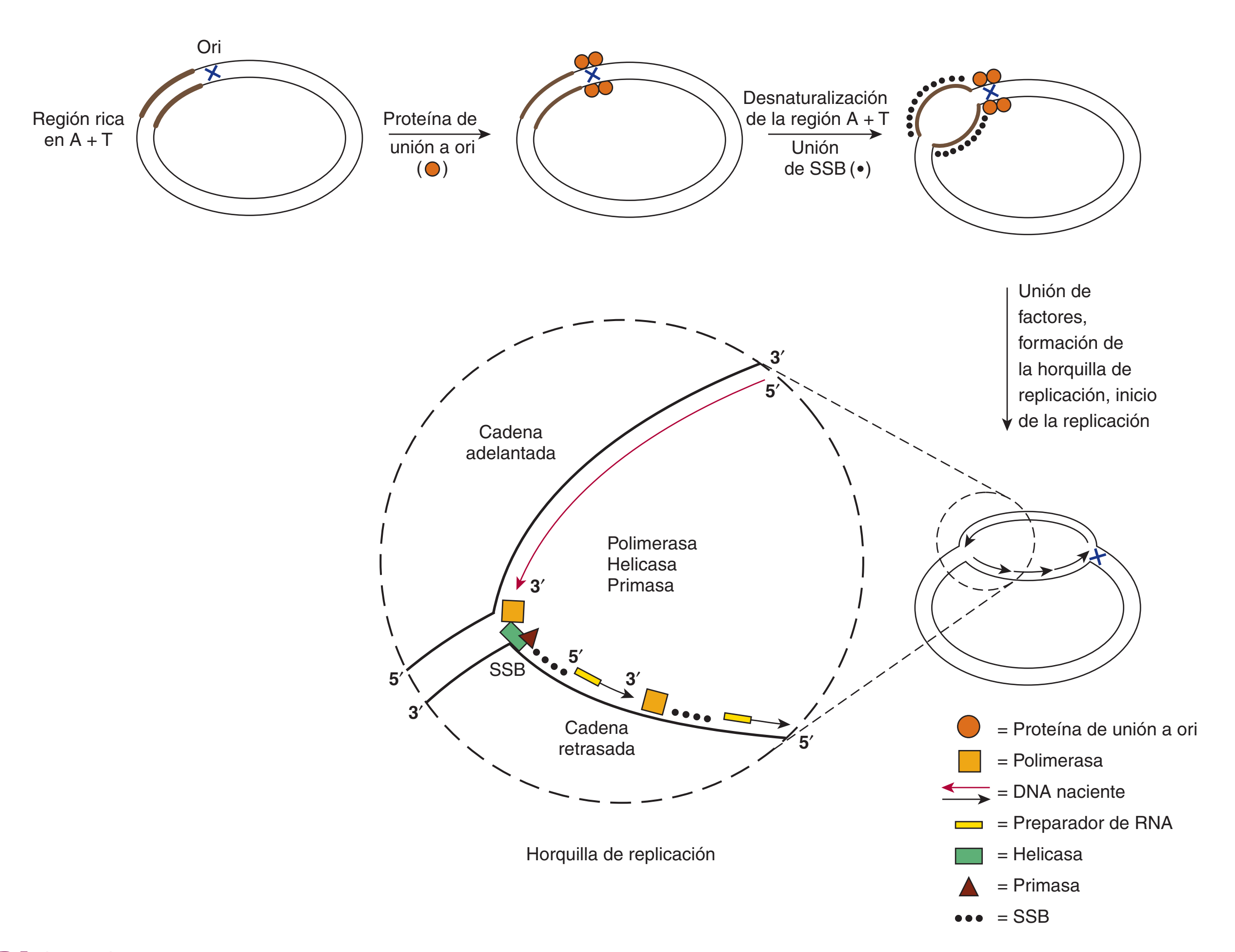


FIGURA 35–13 **Pasos incluidos en la replicación de DNA.** Esta figura describe la replicación de DNA en una célula de *E. coli*, pero los pasos generales son similares en eucariotas. Una interacción específica de una proteína (la proteína dnaA) con el origen de replicación (oriC) produce desenrollado local del DNA en una región adyacente rica en A+T. El DNA en esta área se mantiene en la conformación de cadena única (ssDNA) por medio de proteínas de unión a cadena única (SSB). Esto permite que diversas proteínas, entre ellas la helicasa, primasa y DNA polimerasa, se unan e inicien la síntesis de DNA. La horquilla de replicación procede conforme la síntesis de DNA sucede de manera continua (flecha roja larga) sobre la cadena adelantada, y de modo discontinuo (flechas de color negro cortas) en la cadena retrasada. El DNA naciente siempre se sintetiza en la dirección 5′ a 3′, dado que las DNA polimerasas sólo pueden añadir un nucleótido al extremo 3′ de una cadena de DNA.

dnaJ y GrpE) cooperan para eliminar la proteína P y activar la dnaB helicasa. En cooperación con SSB, esto lleva al desenrollado y replicación activa del DNA. Así, la replicación del fago λ se logra a expensas de la replicación de la célula de *E. coli* huésped.

Formación de la horquilla de replicación

Una horquilla de replicación consta de cuatro componentes que se forman en la secuencia que sigue: 1) la DNA helicasa desenrolla un segmento corto del DNA dúplex madre; 2) una primasa inicia la síntesis de una molécula de RNA que es esencial para preparar la síntesis de DNA; 3) la DNA polimerasa inicia la síntesis de la cadena hija, naciente, y 4) las SSB se unen al ssDNA y evitan el retemplado prematuro de ssDNA hacia dsDNA. Dichas reacciones se ilustran en la figura 35-13.

La enzima DNA polimerasa III (el producto del gen *dnaE* en *E. coli*) se une a DNA plantilla como parte de un complejo de múltiples proteínas que consta de varios factores accesorios de polimerasa (β, γ, δ, δ′ y τ). Las DNA polimerasas sólo sintetizan DNA en la dirección 5′ a 3′, y únicamente uno de los varios tipos diferentes de polimerasas participa en la horquilla de replicación. Puesto que las cadenas de DNA son antiparalelas (cap. 34), la polimerasa funciona de modo asimétrico. En la **cadena adelantada** (**hacia adelante**, también denominada cadena líder, guía o conductora), el DNA se sintetiza de manera continua. En la **cadena retrasada** (**retrógrada**, también llamada cadena rezagada o retardada), el DNA se sintetiza en fragmentos cortos (1 a 5 kb; figura 35-16), los denominados **fragmentos de Okazaki**. Varios de estos fragmentos (hasta 1 000) deben sintetizarse de modo secuencial para cada horquilla de replicación. Con el fin de asegurar que esto suceda, la helicasa actúa sobre la cadena retrasada para desenrollar dsDNA en una dirección 5′ a 3′. La helicasa se asocia con la primasa para permitir a esta última acceso apropiado a la plantilla; lo anterior permite que sea formado el preparador de RNA y, a su vez, que la polimerasa empiece a replicar el DNA. Se trata de una secuencia de reacción importante dado que las DNA polimerasas no pueden iniciar la síntesis de DNA *de novo*. El complejo móvil entre helicasa y primasa se ha llamado **primosoma**. Conforme se completa la síntesis de un fragmento de Okazaki y se libera la polimerasa, se ha sintetizado un nuevo preparador. La misma molécula de polimerasa permanece asociada con la horquilla de replicación, y procede a sintetizar el siguiente fragmento de Okazaki.

CUADRO 35–5 Clases de proteínas comprendidas en la replicación

Proteína	Función
DNA polimerasas	Polimerización de desoxinucleótido
Helicasas	Desenrollamiento procesivo de DNA
Topoisomerasas	Alivian la tensión de torsión que se produce por desenrollado inducido por helicasa
DNA primasa	Inicia la síntesis de preparadores de RNA
Proteínas de unión de cadena única	Evitan el retemplado prematuro de dsDNA
DNA ligasa	Sella la muesca de cadena única entre la cadena naciente y fragmentos de Okazaki en la cadena retrasada

CUADRO 35–6 Una comparación de DNA polimerasas procariótica y eucariótica

E. coli	Eucariótica	Función
I		Llenado de brecha después de replicación, reparación y recombinación de DNA
II		Lectura de pruebas y reparación de DNA
	β	Reparación de DNA
	γ	Síntesis de DNA mitocondrial
III	ε	Síntesis de cadena adelantada, procesiva
DnaG	α	Primasa
	δ	Síntesis de cadena retrasada, procesiva

El complejo de DNA polimerasa

Varias moléculas de DNA polimerasa diferentes se encargan de la replicación de DNA y comparten tres propiedades importantes: 1) **alargamiento de cadena**, 2) **procesividad** y 3) **corrección de pruebas**. El alargamiento de cadena explica el índice (en nucleótidos por segundo, nt/s) al cual ocurre la polimerización. La procesividad es una expresión del número de nucleótidos añadidos a la cadena naciente antes de que la polimerasa se separe de la plantilla. La función de corrección de pruebas identifica los errores de copiado y los corrige. En *E. coli*, la DNA polimerasa III (pol III) funciona en la horquilla de replicación. De todas las polimerasas, cataliza el índice más alto de alargamiento de cadena, y es la más procesiva. Tiene la capacidad de polimerizar 0.5 Mb de DNA durante un ciclo en la cadena adelantada. La pol III es un complejo proteínico de múltiples subunidades, grande (>1 MDa), en *E. coli*. La DNA pol III se asocia con las dos subunidades β idénticas de la "abrazadera" de deslizamiento de DNA; esta asociación aumenta de manera notoria la estabilidad del complejo de pol III-DNA, la procesividad (100 a >50 000 ntd) y el índice de alargamiento de cadena (20 a 50 ntd/s), lo que genera el alto grado de procesividad que demuestra la enzima.

Las polimerasas I (pol I) y II (pol II) participan en su mayor parte en la corrección de pruebas y la reparación de DNA. Las células eucarióticas tienen homólogos para cada una de estas enzimas, más un número grande de DNA polimerasas adicionales que participan de modo primario en la reparación del DNA. El **cuadro 35-6** muestra una comparación.

En células de mamífero, la polimerasa tiene la capacidad de polimerizar a un índice que es un poco más lento que el índice de polimerización de desoxinucleótidos por el complejo de DNA polimerasa bacteriano. Este índice disminuido quizá depende de interferencia por nucleosomas.

Inicio y alargamiento de la síntesis de DNA

El inicio de la síntesis de DNA (**figura 35-14**) requiere **preparación por un tramo corto de RNA**, de alrededor de 10 a 200 nucleótidos de largo. En *E. coli* esto es catalizado por la dnaG (primasa); en eucariotas la DNA pol α sintetiza estos preparadores de RNA. El proceso de preparación incluye ataque nucleofílico por el grupo 3′-hidroxilo del preparador de RNA sobre el fosfato del desoxinucleósido trifosfato que entra primero (*N* en la figura 35-14) con separación de pirofosfato; esta transición hacia síntesis de DNA es catalizada por las DNA polimerasas apropiadas (DNA pol III en *E. coli*; DNA pol δ y ε en eucariotas). El grupo 3′-hidroxilo del desoxirribonucleósido monofosfato recientemente fijado queda libre entonces para llevar a cabo un **ataque nucleofílico** sobre el siguiente desoxirribonucleósido trifosfato que entre (N + 1 en la figura 35-14), de nuevo en su porción fosfato α, con la separación de pirofosfato. Por supuesto, la selección del desoxirribonucleótido apropiado cuyo grupo 3′-hidroxilo terminal va a ser atacado depende de la **formación apropiada de pares de bases con la otra cadena** de la molécula de DNA de acuerdo con las reglas propuestas originalmente por Watson y Crick (**figura 35-15**). Cuando una porción adenina desoxirribonucleósido monofosforilo está en la posición de plantilla, una timidina trifosfato entrará, y el grupo 3′-hidroxilo del desoxirribonucleósido monofosforilo añadido más recientemente al polímero atacará su fosfato α. Por medio de este proceso por pasos, la plantilla dicta cuál desoxirribonucleósido trifosfato es complementario, y mediante enlaces de hidrógeno lo sostiene en su sitio mientras el grupo 3′-hidroxilo de la cadena en crecimiento ataca e incorpora el nuevo nucleótido hacia el polímero. Estos segmentos de DNA fijos a un componente iniciador de RNA son los **fragmentos de Okazaki** (**figura 35-16**). En mamíferos, después de que se generan muchos de estos fragmentos, el complejo de replicación empieza a eliminar los preparadores de RNA, a llenar las brechas dejadas por su eliminación con el desoxinucleótido pareado con base apropiado, y luego a sellar los fragmentos de DNA recién sintetizado, por medio de enzimas denominadas **DNA ligasas**.

La replicación muestra polaridad

Como se mencionó, las moléculas de DNA son bicatenarias, y las dos cadenas son antiparalelas. La replicación de DNA en procariotas y eucariotas sucede en ambas cadenas a la vez. Sin embargo, una enzima que tiene la capacidad de polimerizar DNA en la dirección 3′ a 5′ no existe en organismo alguno, de manera que las dos cadenas de DNA recién replicadas no

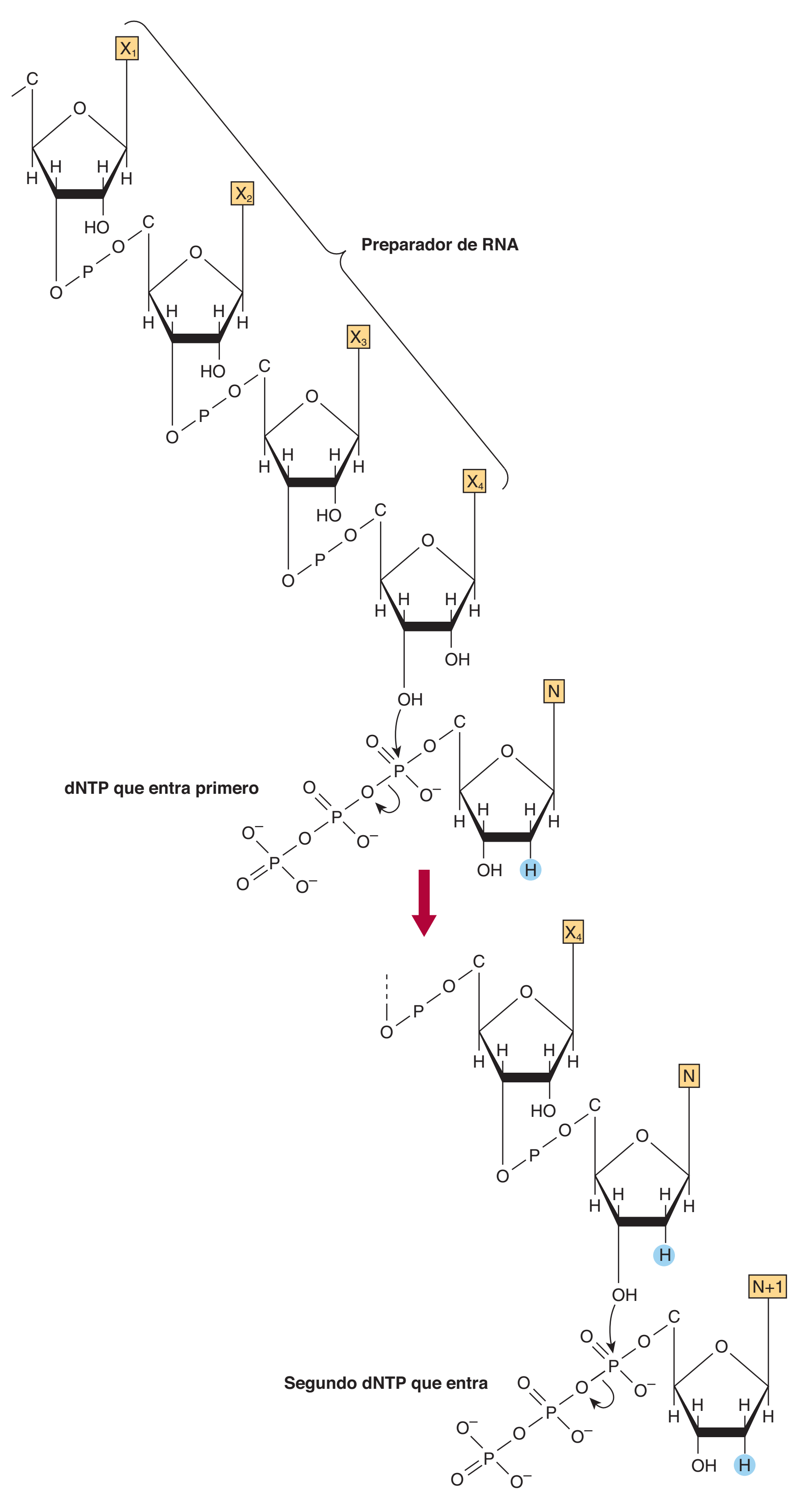


FIGURA 35-14 **El inicio de la síntesis de DNA sobre un preparador de RNA, y la fijación subsiguiente del segundo desoxirribonucleósido trifosfato.**

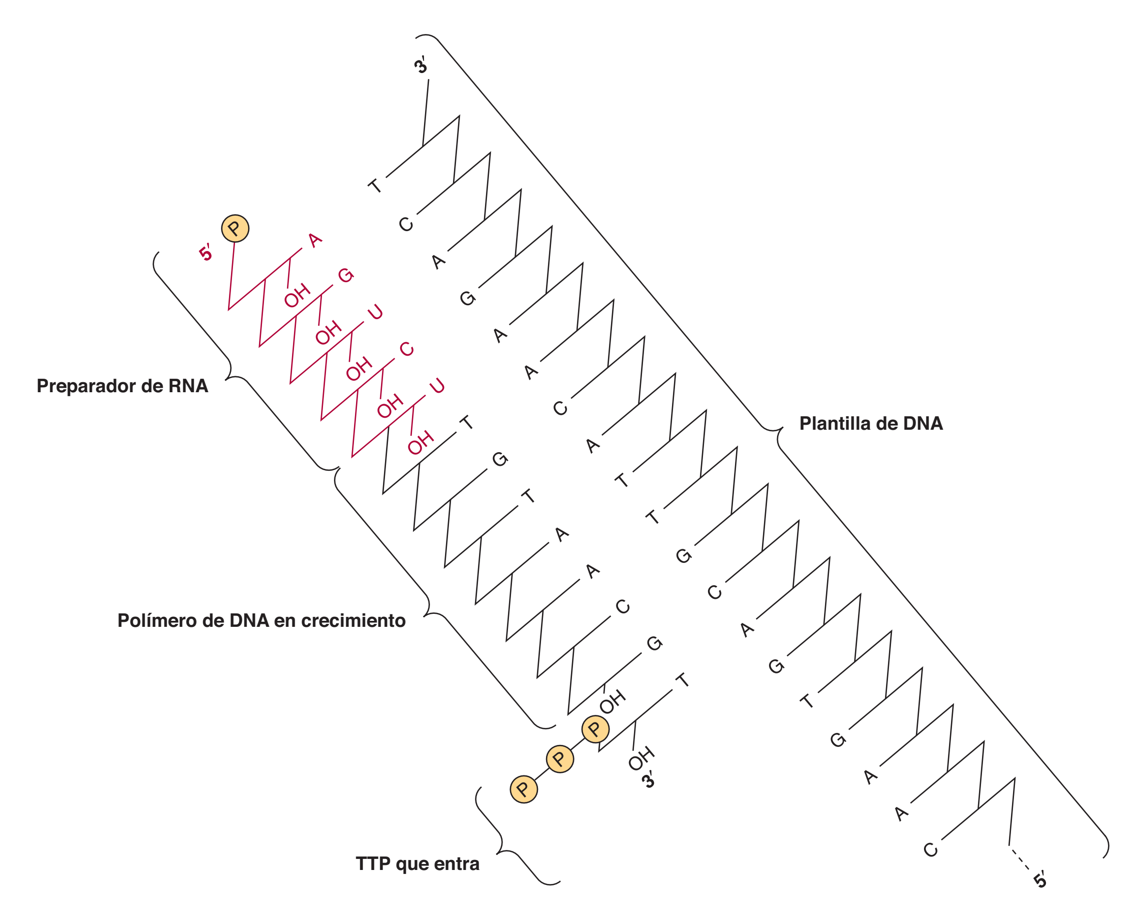


FIGURA 35–15 **La síntesis de DNA preparada por RNA que demuestra la función de plantilla de la cadena complementaria del DNA madre.**

pueden crecer en la misma dirección de modo simultáneo. Empero, la misma enzima replica a ambas cadenas al mismo tiempo. La enzima única replica una cadena ("cadena adelantada") de una manera continua en la dirección 5′ a 3′, con la misma dirección anterógrada general. Replica la otra cadena ("cadena retrasada") de modo discontinuo mientras polimeriza los nucleótidos en sucesiones cortas de 150 a 250 nucleótidos, de nuevo en la dirección 5′ a 3′, pero al mismo tiempo mira hacia el extremo posterior del preparador de RNA precedente en lugar de hacia la porción no replicada. Este proceso de **síntesis de DNA semidiscontinua** se muestra en un diagrama en las figuras 35-13 y 35-16.

Formación de burbujas de replicación

La replicación procede desde un ori único en el cromosoma bacteriano circular, compuesto de aproximadamente 5×10^6 bp de DNA. Este proceso se completa en alrededor de 30 min, un índice de replicación de 3×10^5 bp/min. El genoma de mamífero completo se replica en aproximadamente 9 h, el periodo promedio requerido para la formación de un genoma tetraploide a partir de un genoma diploide en una célula en replicación. Si un genoma de mamífero (3×10^9 bp) se replica al mismo índice que en las bacterias (es decir, 3×10^5 bp/min) a partir de un ori único, la replicación tardaría ¡más de 150 h! Los organismos metazoarios sortean este problema usando dos estrategias. En primer lugar, la replicación es bidireccional. En segundo lugar, la replicación procede desde orígenes múltiples en cada cromosoma (un total de hasta 100 en seres humanos). De esta manera, la replicación se produce en ambas direcciones a lo largo de todos los cromosomas, y ambas cadenas se replican a la vez. Este proceso de replicación genera **"burbujas de replicación"** (**figura 35-17**).

Los múltiples sitios que sirven como orígenes para la replicación de DNA en eucariotas están poco definidos, excepto en

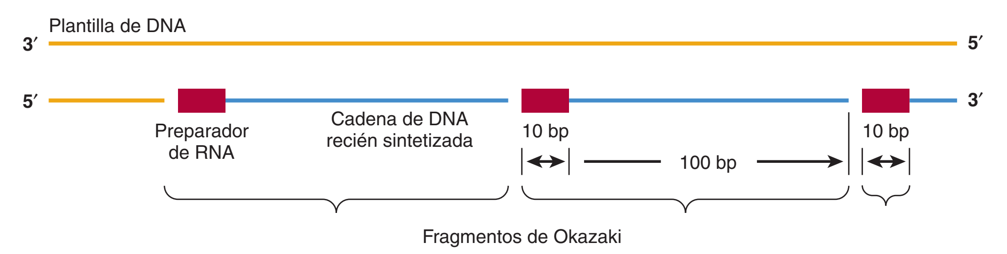


FIGURA 35–16 **La polimerización discontinua de desoxirribonucleótidos en la cadena retrasada; se ilustra la formación de fragmentos de Okazaki durante la síntesis de DNA de cadena retrasada.** Dichos fragmentos tienen 100 a 250 nucleótidos de largo en eucariotas, y 1 000 a 2 000 nucleótidos en procariotas.

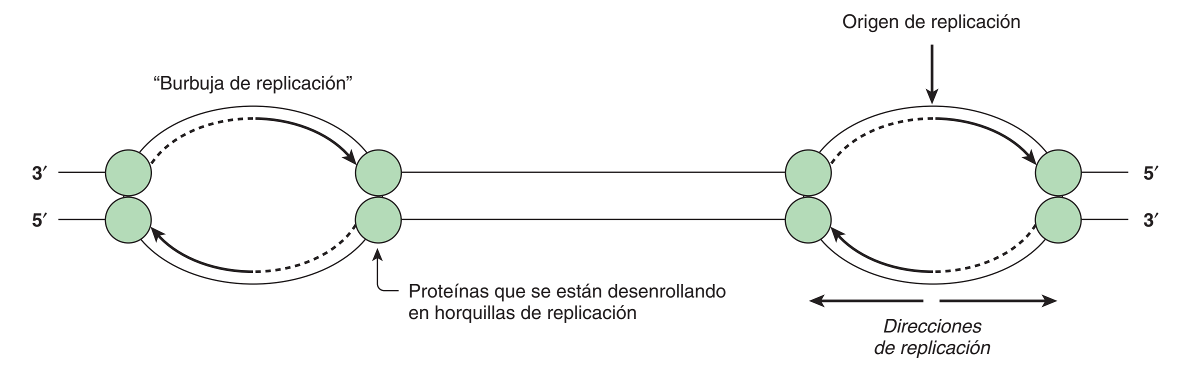


FIGURA 35–17 **La generación de "burbujas de replicación" durante el proceso de síntesis de DNA.** Se describen la replicación bidireccional y las posiciones propuestas de proteínas que se están desenrollando en las horquillas de replicación.

algunos virus de animales, y en levaduras. Con todo, está claro que el inicio está regulado en los aspectos tanto espacial como temporal, puesto que agrupaciones de sitios adyacentes inician la replicación de modo sincrónico. La activación de la replicación, o el inicio de la replicación de DNA en un replicador/ori, está influida por varias propiedades bien determinadas de la estructura de cromatina, que apenas están empezando a entenderse. Aun así, está claro que hay más replicadores y ORC excesivo que los necesarios para replicar el genoma de mamíferos dentro del tiempo de una fase S típica; por ende, debe haber mecanismos para controlar el exceso de replicadores unidos a ORC. El entendimiento del control de la formación de complejos de replicación y la activación de los mismos es uno de los principales desafíos en este campo.

Durante la replicación de DNA, debe haber una separación de las dos cadenas para permitir que cada una sirva como una plantilla al unir con hidrógeno sus bases nucleótido al desoxinucleótido trifosfato que está entrando. La separación de la doble hélice de DNA es promovida por SSB en *E. coli*, una proteína llamada proteína de replicación A (RPA) en eucariotas; estas moléculas estabilizan la estructura monocatenaria a medida que progresa la horquilla de replicación. Las proteínas estabilizantes se unen de manera cooperadora y estequiométrica a las cadenas únicas sin interferir con las capacidades de los nucleótidos para servir como plantillas (figura 35-13). Además de separar las dos cadenas de la doble hélice, debe haber un desenrollado de la molécula (una vez cada 10 pares de nucleótidos) para permitir la separación de cadena. El complejo proteínico de DNA β hexamérico desenrolla DNA en *E. coli*, mientras que el complejo de MCM hexamérico desenrolla el DNA eucariótico. Este desenrollado ocurre en segmentos adyacentes a la burbuja de replicación; para contrarrestarlo hay múltiples "uniones giratorias" entremezcladas en las moléculas de DNA de todos los organismos. La función de giro es proporcionada por enzimas específicas que introducen **"muescas" en una cadena de la doble hélice que se está desenrollando**, lo que permite que proceda el proceso de desenrollado. Las muescas se vuelven a sellar con rapidez y sin requerir ingreso de energía, debido a la formación de un enlace covalente de alta energía entre el esqueleto de fosfodiéster que tiene la muesca y la enzima de resellado de muescas; este último tipo de enzima recibe el nombre de **DNA topoisomerasas**. Dicho proceso se describe en un diagrama en la **figura 35-18**, y ahí se compara con el resellado dependiente de ATP llevado a cabo por las DNA ligasas. Las topoisomerasas también tienen la capacidad de desenrollar DNA superenrollado; éste es una estructura de orden superior que se encuentra en moléculas de DNA circulares envueltas alrededor de un centro (**figuras 35-2** y **35-19**).

En una especie de virus de animales (retrovirus) hay una clase de enzimas capaz de sintetizar una molécula de DNA monocatenaria y después una bicatenaria a partir de una plantilla de RNA monocatenario. Esta polimerasa, la DNA polimerasa dependiente de RNA, o **"transcriptasa inversa"**, sintetiza primero una molécula híbrida de DNA-RNA utilizando el genoma de RNA como una plantilla. Una nucleasa codificada por virus específica, la **RNasa H**, degrada a la cadena de RNA plantilla hibridada y la cadena de DNA restante, a su vez, sirve como una plantilla para formar una molécula de dsDNA que contiene la información originalmente presente en el genoma RNA del virus de animal.

Reconstitución de la estructura de cromatina

Hay evidencia de que la organización nuclear y la estructura de cromatina están involucradas en la determinación de la regulación y el inicio de la síntesis de DNA. Como se comentó, el índice de polimerización en células eucarióticas, que tienen cromatina y nucleosomas, es más lento que el que se observa en células procariotas, que carecen de cromosomas canónicos. También está claro que la estructura de cromatina debe volver a formarse luego de la replicación. El DNA recién replicado se monta con rapidez hacia nucleosomas, y los octámeros de histonas preexistentes y recién montados se distribuyen al azar hacia cada brazo de la horquilla de replicación. Estas reacciones se facilitan mediante las acciones de proteínas chaperón de histona que trabajan conjuntamente con complejos remodeladores de cromatina.

El DNA se sintetiza durante la fase S del ciclo celular

En células de animales, incluso células de seres humanos, el genoma de DNA sólo se replica en un momento especificado en el

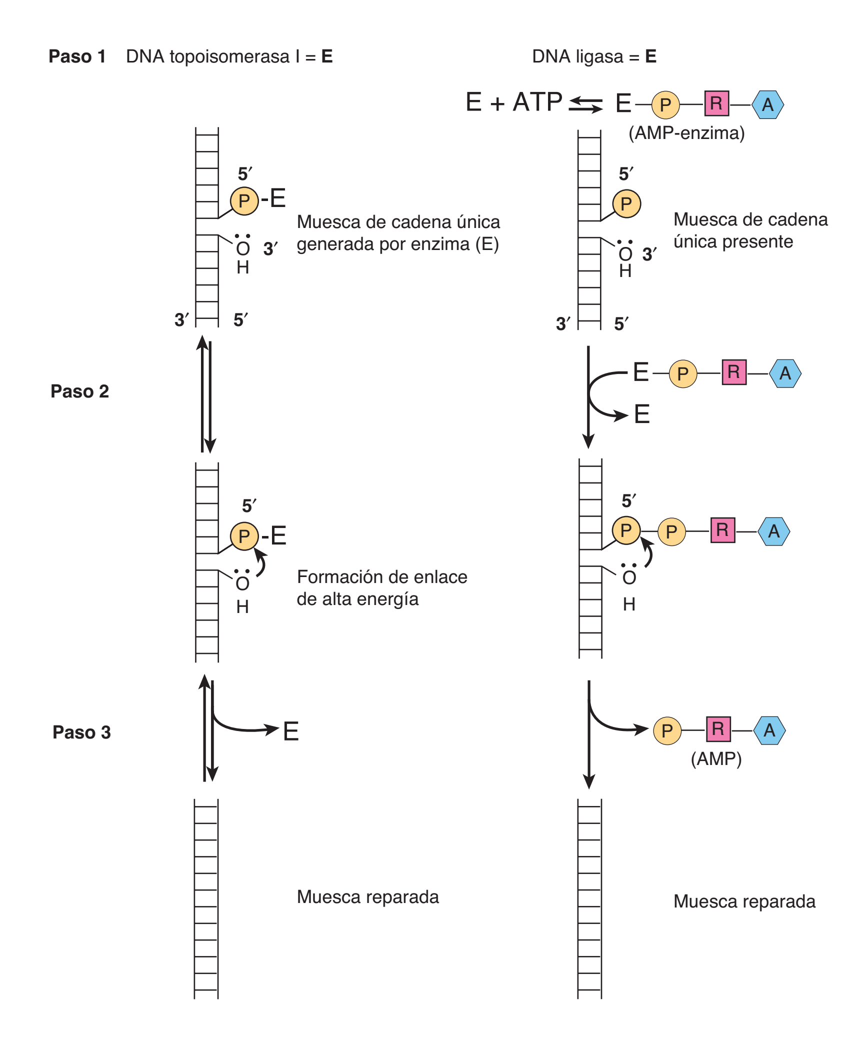


FIGURA 35–18 Comparación de dos tipos de reacciones de sellado de muescas en el DNA. La serie de reacciones a la izquierda es catalizada por la DNA topoisomerasa I, y la de la derecha por la DNA ligasa; P, fosfato; R, ribosa; A, adenina. (Modificada un poco, y reproducida, con autorización, de Lehninger AL: *Biochemistry*, 2nd ed. Worth, 1975. Copyright ©1975 por Worth Publishers. Usada con autorización de W. H. Freeman and Company).

transcurso del lapso de vida de las células. Este periodo se llama la **fase sintética** o **S**. Esto por lo general está separado temporalmente de la fase **mitótica o fase M**, por periodos no sintéticos denominados **fases gap 1** (**G_1**) y **gap 2** (**G_2**), que ocurren antes y después de la fase S, respectivamente (**figura 35-20**). Entre otras cosas, la célula se prepara para la síntesis de DNA durante G_1, y para la mitosis durante G_2. La célula regula el proceso de síntesis de DNA al permitir que únicamente suceda una vez por ciclo celular y sólo en momentos específicos y en su mayor parte en células que se están preparando para dividirse por medio de un proceso mitótico.

Todas las células eucarióticas tienen productos de gen que rigen la transición desde una fase del ciclo celular hacia la otra. Las **ciclinas** son una familia de proteínas cuya concentración se incrementa y disminuye en momentos específicos, esto es, en el "ciclo" durante el ciclo celular (de ahí su nombre). Las ciclinas activan, en el momento apropiado, diferentes **proteína cinasas dependientes de ciclina** (**CDK**) que fosforilan sustratos esenciales para la progresión por el ciclo celular (**figura 35-21**). Por ejemplo, Las cifras de ciclina D aumentan al final de la fase G_1 y permiten la progresión más allá del punto de **inicio** (**levadura**) o **de restricción** (**mamíferos**), donde las células proceden de modo irrevocable hacia la fase S o de síntesis de DNA.

Las ciclinas D activan CDK4 y CDK6. Estas dos cinasas también se sintetizan en el transcurso de G_1 en células que se están dividiendo de manera activa. Las ciclinas D y CDK4 y CDK6 son proteínas nucleares que se montan como un complejo al final de la fase G_1. El complejo es una serina-treonina proteína cinasa activa. Un sustrato para esta cinasa es la proteína de retinoblastoma (Rb). El Rb es un regulador del ciclo celular porque se une a, y desactiva, un factor de transcripción (E2F) necesario para la transcripción de ciertos genes (genes que codifican para histona, proteínas de replicación de DNA, etc.) necesarios para la progresión desde la fase G_1 hacia la S. La fosforilación de Rb por CDK4 o CDK6 produce liberación de E2F desde Rb por represión de la transcripción mediada por Rb; de este modo, surge activación de gen, y tiene lugar progresión del ciclo celular.

Otras ciclinas y CDK participan en diferentes aspectos de la progresión del ciclo celular (**cuadro 35-7**). La ciclina E y la CDK2 forman un complejo al final de G_1. La ciclina E se degrada con rapidez, y la CDK2 liberada a continuación forma un complejo con la ciclina A. Esta secuencia es necesaria para el inicio de la síntesis de DNA durante la fase S. Un complejo entre ciclina B y CDK1 es limitante para la transición G2/M en células eucarióticas.

Muchos de los virus que ocasionan cáncer (oncovirus) y de los genes que inducen cáncer (oncogenes) tienen la capacidad para aliviar o alterar la restricción manifiesta que normalmente controla la entrada de células de mamífero desde la fase G_1 hacia la S. Con base en lo anterior, podría haberse conjeturado que la

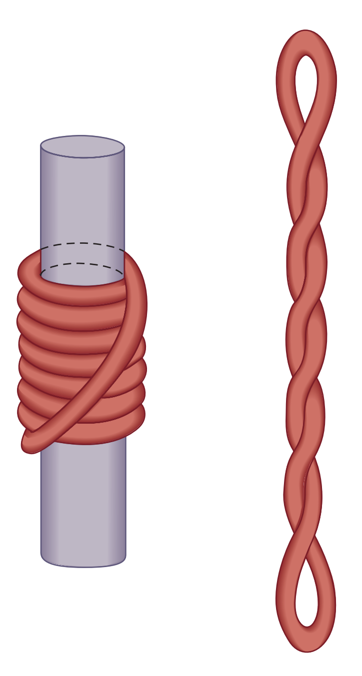


FIGURA 35–19 Superenrollamiento de DNA. Una superhélice toroidal siniestra (solenoidal), a la izquierda, se convertirá en una superhélice diestra que gira sobre sí misma, a la derecha, cuando se elimina el centro cilíndrico. Esa transición es análoga a la que se produce cuando los nucleosomas se alteran mediante la extracción de histonas desde la cromatina en un medio con concentración alta de sal.

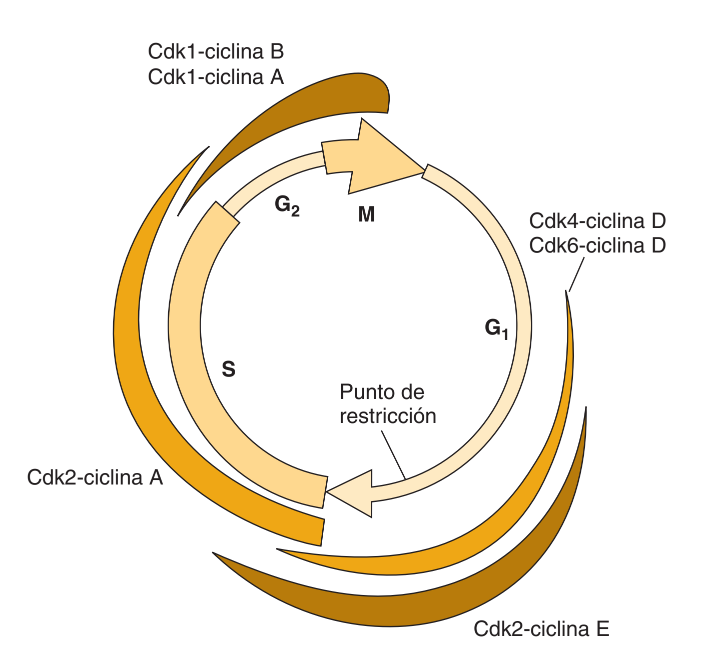


FIGURA 35–21 Ilustración esquemática de los puntos en el transcurso del ciclo celular de mamífero, durante los cuales se activan las ciclinas y las cinasas dependientes de ciclina indicadas. El grosor de las diversas líneas coloreadas indica la extensión de la actividad.

producción excesiva de una ciclina, la pérdida de un inhibidor de CDK específico, o la producción o activación de una ciclina/CDK en un momento inapropiado podría traducirse en división celular anormal o irrestricta. En este contexto cabe hacer notar que el oncogén *bcl* vinculado con el linfoma de células B parece ser el gen que codifica para la ciclina D1. De modo similar, las oncoproteínas (o proteínas transformadoras) producidas por varios virus DNA establecen como objetivo el represor de la transcripción Rb para desactivación, lo que induce división celular de manera inapropiada, mientras que la desactivación de Rb, que por sí mismo es un gen supresor tumoral, lleva a crecimiento celular descontrolado y formación de tumores.

En el transcurso de la fase S, las células de mamífero contienen cantidades más grandes de DNA polimerasa que durante las fases no sintéticas del ciclo celular. Más aún, también hay incremento de la actividad de las enzimas de las cuales depende la formación de los sustratos para la síntesis de DNA —es decir, desoxirribonucleósido trifosfatos— y su actividad disminuirá luego de la fase sintética en tanto no reaparezca la señal para síntesis renovada de DNA. En el transcurso de la fase S, **el DNA**

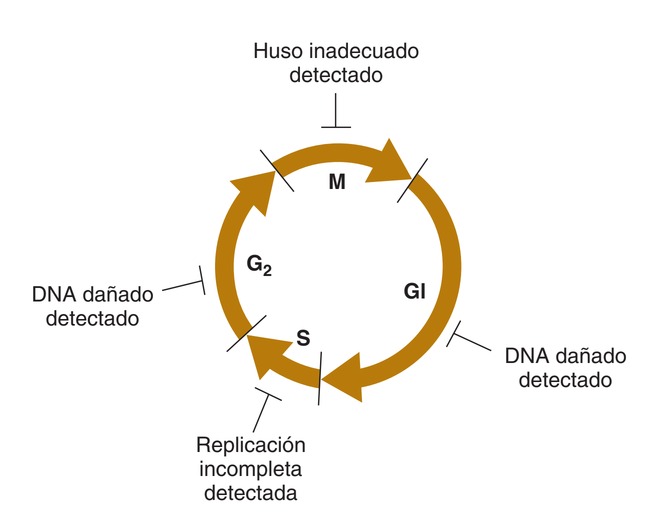


FIGURA 35–20 El progreso a través del ciclo celular de mamífero es monitoreado de continuo mediante múltiples puntos de control del ciclo celular. La integridad del DNA, el cromosoma y la segregación del cromosoma se monitorea de manera continua durante todo el ciclo celular. Si se detecta daño del DNA en la fase G_1 o la G_2 del ciclo celular, si el genoma está replicado de modo incompleto, o si la maquinaria de segregación de cromosoma normal es incompleta (es decir, un huso defectuoso), las células no progresarán por la fase del ciclo en el cual se detectan defectos. En algunos casos, si es imposible reparar el daño, esas células pasan por muerte celular programada (apoptosis).

CUADRO 35–7 Ciclinas y cinasas dependientes de ciclina involucradas en la progresión del ciclo celular

Ciclina	Cinasa	Función
D	CDK4, CDK6	Progresión más allá del punto de restricción en el límite G_1/S
E, A	CDK2	Inicio de las síntesis de DNA en la fase S temprana
B	CDK1	Transición desde G_2 hacia M

CUADRO 35–8 Tipos de daño del DNA

I. Alteración de base única A. Despurinación B. Desaminación de citosina a uracilo C. Desaminación de adenina a hipoxantina D. Alquilación de base E. Inserción o deleción de nucleótido F. Incorporación de análogo de base
II. Alteración de dos bases A. Dímero de timina-timina (pirimidina) inducido por luz UV B. Entrecruzamiento por agente alquilante bifuncional
III. Roturas de cadena A. Radiación ionizante B. Desintegración radiactiva de elemento de esqueleto C. Formación de radical libre oxidativo
IV. Entrecruzamiento A. Entre bases en la misma cadena o en cadenas opuestas B. Entre DNA y moléculas de proteína (p. ej., histonas)

nuclear se replica por completo una vez y sólo una vez. Parece ser que ya que la cromatina se ha replicado, se marca de manera que se impida su replicación adicional en tanto no pase otra vez por mitosis. Este proceso se denomina **emisión de licencia para la replicación**. Los mecanismos moleculares para este fenómeno parecen comprender disociación, o fosforilación de ciclina-CDK, o ambas, y degradación subsiguiente de varias proteínas de unión a origen que desempeñan funciones cruciales en la formación de complejo de replicación. En consecuencia, los orígenes sólo se activan una vez por cada ciclo celular.

En general, un par dado de cromosomas se replica de manera simultánea y dentro de una porción fija de la fase S en el momento de cada replicación. En un cromosoma, agrupaciones de unidades de replicación se replican de modo coordinado. Se desconoce la naturaleza de las señales que regulan la síntesis de DNA a estos niveles, pero la regulación parece ser una propiedad intrínseca de cada cromosoma individual que está mediada por los varios orígenes de replicación contenidos ahí.

Todos los organismos contienen mecanismos complejos, conservados desde el punto de vista evolutivo, para reparar DNA dañado

La reparación de DNA dañado es crucial para mantener la integridad genómica y, así, evitar la propagación de mutaciones, sea de modo horizontal, es decir, cambios de secuencia de DNA en células somáticas, o vertical, en la cual lesiones no reparadas están presentes en el DNA de espermatozoide o de ovocito y, por ende, pueden transmitirse a la progenie. El DNA queda sujeto a diario a una enorme gama de lesiones de origen químico, físico y biológico (**cuadro 35-8**), de ahí que el reconocimiento de lesiones del DNA y la reparación de las mismas sea esencial. En consecuencia, las células eucarióticas contienen cinco vías principales de reparación del DNA, cada una de las cuales contiene múltiples proteínas a veces compartidas; estas proteínas de reparación del DNA típicamente tienen ortólogos en procariontes. Los mecanismos de reparación del DNA son las vías de reparación: **reparación por escisión de nucleótido, NER; reparación de errores de emparejamiento, MMR; reparación por escisión de bases, BER; recombinación homóloga, HR**, y **unión de extremo no homólogo, NHEJ** (**figura 35-22**). La naturaleza ha efectuado el experimento de probar la importancia de muchas de estas proteínas de reparación del DNA para las características biológicas del ser humano —las mutaciones en un gran número de estos genes llevan a enfermedad de seres humanos (**cuadro 35-9**)—. Más aún, experimentos dirigidos a gen sistemáticos con ratones de laboratorio también han atribuido claramente a estos genes funciones cruciales de mantenimiento de la integridad

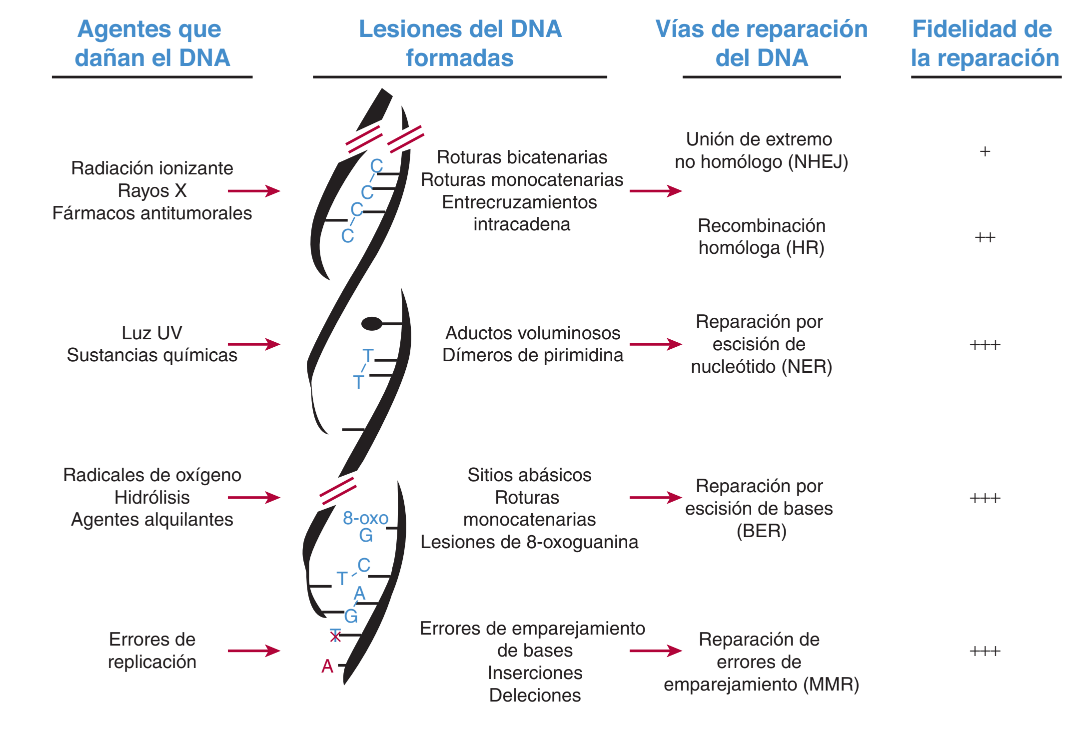


FIGURA 35–22 Los mamíferos usan múltiples vías de reparación del DNA, de exactitud variable, para reparar las muchísimas formas de daño del DNA a las cuales está sujeto el DNA genómico. Se listan los principales tipos de agentes que dañan el DNA, las lesiones del DNA así formadas (esquematizadas y listadas), la vía de reparación del DNA que se encarga de reparar las diferentes lesiones, y la fidelidad relativa de estas vías. [Modificada, con autorización, de "DNA-Damage Response in Tissue-Specific and Cancer Stem Cells" *Cell Stem Cell* 8:16–29 (2011) copyright © 2011 Elsevier Inc.]

CUADRO 35–9 Enfermedades por defectos de reparación del daño del DNA de seres humanos

Reparación por unión de extremo no homólogo (NHEJ) defectuosa
Enfermedad de inmunodeficiencia combinada grave (SCID)
Enfermedad de inmunodeficiencia combinada grave sensible a la radiación (RS-SCID)
Reparación homóloga (HR) defectuosa
Trastorno tipo AT (ATLD)
Síndrome de rotura de Nijmegen (NBS)
Síndrome de Bloom (BS)
Síndrome de Werner (WS)
Síndrome de Rothmund Thomson (RTS)
Susceptibilidad a cáncer mamario 1 y 2 (BRCA1, BRCA2)
Reparación por escisión de nucleótido (NER) de DNA defectuoso
Xeroderma pigmentoso (XP)
Síndrome de Cockayne (CS)
Tricotiodistrofia (TTD)
Reparación por escisión de base (BER) de DNA defectuoso
Poliposis asociada a MUTYH (MAP)
Reparación de errores de emparejamiento (MMR) de DNA defectuoso
Cáncer colorrectal hereditario sin poliposis (HNPCC)

del gen. En estudios de genética de ratones, se observó que de hecho las mutaciones dirigidas dentro de estos genes inducen defectos de la reparación del DNA, mientras que a menudo también aumentan de manera notoria la susceptibilidad a cáncer.

Uno de los mecanismos de reparación de DNA estudiados de manera más intensiva es el mecanismo que se usa para reparar **roturas bicatenarias de DNA**, o **DSB**; lo que se comenta con cierto detalle aquí. Las células eucarióticas utilizan dos vías, **HR** y **NHEJ**, para eliminar DSB. La elección entre las dos depende de la fase del ciclo celular (figuras 35-20 y 35-21) y del tipo exacto de DSB que va a repararse (cuadro 35-8). Durante las fases G_0/G_1 del ciclo celular, las DSB son corregidas mediante la vía NHEJ, mientras que durante las fases S, y G_2/M del ciclo celular, se utiliza HR. Todos los pasos de la reparación del daño del DNA son catalizados por moléculas evolutivamente conservadas, que incluyen **detectores** de daño de DNA, **transductores**, y **mediadores** de reparación del daño. En conjunto, estas cascadas de proteínas participan en la respuesta celular al daño del DNA. Es importante que los resultados celulares finales del daño del DNA, y los intentos celulares por reparar el daño del DNA, varían desde **retraso del ciclo celular** para permitir que haya reparación del DNA; **paro del ciclo celular**, hasta **apoptosis** o **senescencia** (**figura 35-23**; véase detalle adicional más adelante). Las moléculas involucradas en estos procesos complejos y altamente integrados varían desde modificaciones de histona específicas para daño (esto es, lisina dimetilada 20 histona H4; H4K20me2) y variantes de isotipo de histona, como histona **H2AX** (cuadro 35-1), poli ADP ribosa polimerasa, **PARP**, el complejo proteínico MRN (subunidades Mre11-Rad50-NBS1), hasta proteínas de reconocimiento/emisión de señales de cinasa activadas por daño de DNA (**ATM** [ataxia telangiectasia, mutada] y cinasa relacionada con ATM, **ATR**, la proteína cinasa dependiente de DNA de múltiples subunidades [**DNA-PK y Ku70/80**], y cinasas de punto de control 1 y 2 [**CHK1, CHK2**]). Estas cinasas múltiples fosforilan y, en consecuencia, modulan las actividades de docenas de proteínas, como muchas proteínas de reparación de DNA, de verificación de punto de control, y de control del ciclo celular, como CDC25A, B, C, Wee1, p21, p16 y p19 (todas reguladores de ciclina-CDK [figura 9-8]; diversas exonucleasas y endonucleasas; proteínas de unión a DNA específicas para cadena única de DNA [RPA]; PCNA y DNA polimerasas específicas [DNA pol delta, δ, y eta, η]). Varios de estos (tipos) de proteínas/enzimas se han comentado antes en el contexto de la replicación del DNA. La reparación del DNA y su relación con el control del ciclo celular son áreas de investigación muy activas dados los papeles fundamentales en la biología celular y el potencial para generar cáncer y para prevenirlo.

La integridad del DNA y de cromosomas se monitorea de principio a fin del ciclo celular

Dada la importancia de la función normal del DNA y de los cromosomas para la supervivencia, no sorprende que las células eucarióticas hayan creado mecanismos complejos para monitorear la integridad del material genético. Como se detalló, varios sistemas de enzimas de múltiples subunidades, complejos, han aparecido por evolución para reparar DNA dañado en el ámbito de secuencia de nucleótido. De modo similar, los percances de DNA en el ámbito de cromosoma también se monitorean y reparan. La integridad tanto del DNA como de los cromosomas se monitorea de manera continua durante todo el ciclo celular (figura 35-20). Los cuatro pasos específicos en los cuales ocurre este monitoreo se han llamado **puntos de control**. Si se detectan problemas en alguno de estos puntos, la progresión por el ciclo se interrumpe, y el tránsito por el ciclo celular se suspende en tanto no se repara el daño. Los mecanismos moleculares que fundamentan la detección del daño de DNA en el transcurso de las fases G_1 y G_2 del ciclo se entienden mejor que los que operan durante las fases S y M.

El **supresor tumoral p53**, una proteína de peso molecular de 53 kDa aparente en SDS-PAGE, desempeña un papel clave en la verificación del punto de control tanto de G_1 como de G_2. Normalmente una proteína muy inestable, p53 es un factor de transcripción de unión a DNA, **una de una familia de proteínas relacionadas** (**esto es, p53, p63 y p73**), que de algún modo se estabiliza en respuesta a daño de DNA, quizá por interacciones p53-DNA directas. Al igual que las histonas antes comentadas, p53 está sujeta a una panoplia de PTM reguladoras, todas las cuales probablemente modifican sus múltiples actividades biológicas. Las concentraciones incrementadas de p53 activan la transcripción de un montaje de genes que sirven en conjunto para retrasar el tránsito por el ciclo. Una de estas proteínas inducidas, $p21^{CIP}$, es un potente inhibidor de la CDK-ciclina (CKI) que tiene la capacidad para inhibir con eficiencia la acción de todas las CDK. Está claro que la inhibición de las CDK suspenderá la progresión por el ciclo celular (figuras 35-19 y 35-20). Si el daño del DNA es demasiado extenso como para que se repare, las células afectadas sufren **apoptosis** (muerte celular programada) de una manera dependiente de p53. En este caso, p53 induce la activación de un conjunto de genes que inducen a apoptosis. Las células que carecen de p53 funcional no pasan por apoptosis en respuesta a cifras altas de radiación o de quimioterápicos activos en el DNA. Entonces, tal vez no sorprende que *p53* sea uno de los genes mutados con mayor frecuencia en cánceres de seres

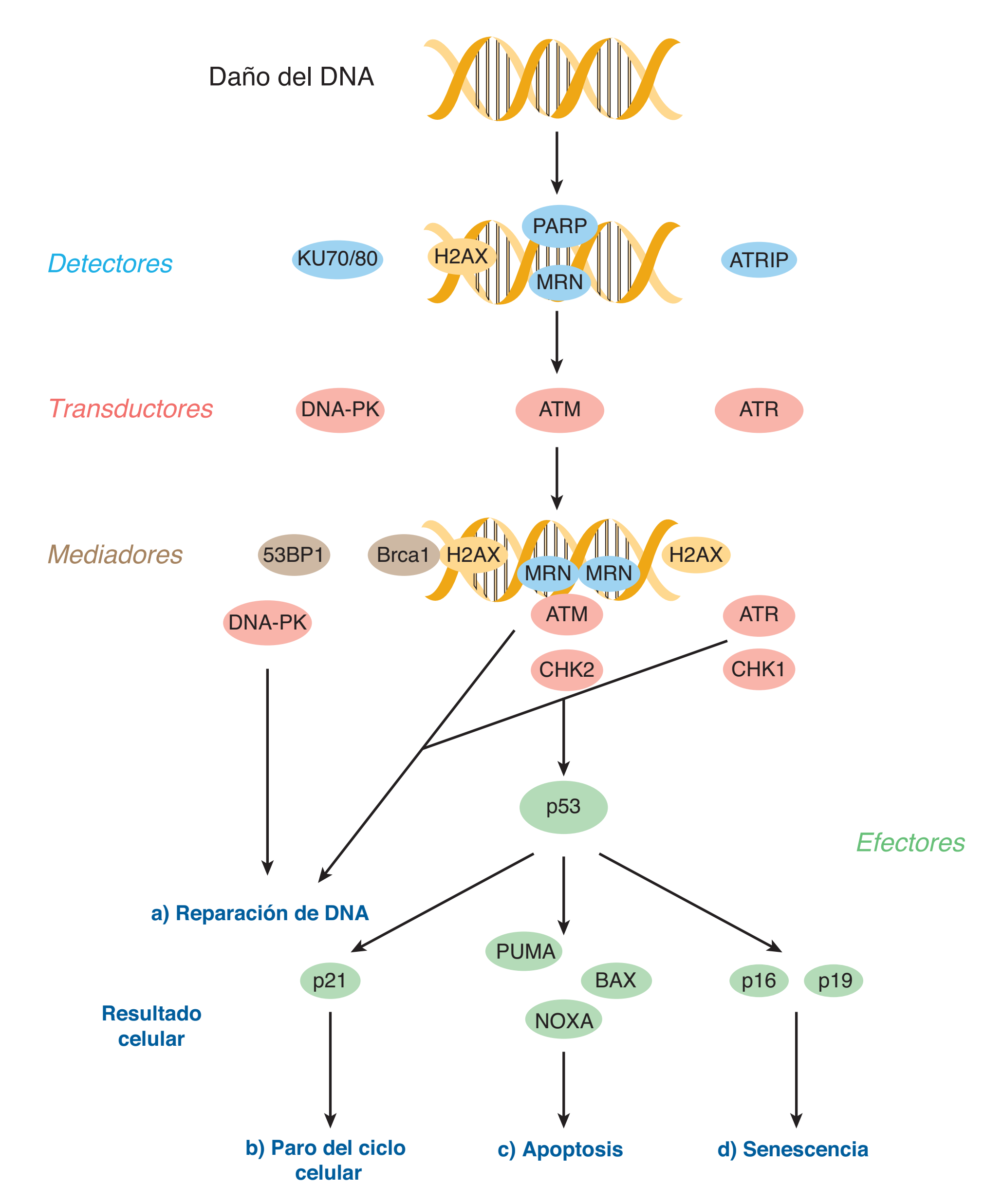


FIGURA 35–23 **Mecanismo de múltiples pasos de reparación de rotura bicatenaria de DNA.** De arriba abajo se muestran las proteínas (complejos proteínicos) que: identifican DSB en el DNA genómico (detectores), transducen el daño de DNA reconocido y lo amplifican (transductores y mediadores), así como las moléculas que dictan los resultados finales de la respuesta al daño del DNA (efectores). El DNA dañado puede: a) ser reparado directamente (reparación de DNA), o, por medio de vías mediadas por p53, y dependiendo de la gravedad del daño del DNA y de los genes activados por p53 inducidos, b), las células pueden ser detenidas en el ciclo celular por p21/WAF1, el potente inhibidor del complejo de CDK-ciclina para permitir que haya tiempo para que el DNA extensamente dañado sea reparado, o c) y d) si el daño del DNA es demasiado extenso como para que se repare, las células pueden entrar en apoptosis o en senescencia; estos dos procesos evitan que la célula que contiene ese DNA dañado alguna vez se divida y, por ende, que induzca cáncer u otros resultados biológicos perjudiciales. (Basada en: "DNA Damage Response in Tissue-Specific and Cancer Stem Cells" *Cell Stem Cell* 8:16–29 (2011) copyright © 2011 Elsevier Inc.)

humanos. De hecho, estudios de secuenciación genómica recientes de múltiples muestras de DNA tumoral sugieren que más de 80% de los cánceres de ser humano porta mutaciones de pérdida de función de p53. La investigación adicional sobre los mecanismos de manejo de punto de control resultará inestimable para la creación de opciones terapéuticas eficaces contra el cáncer.

RESUMEN

- El DNA en células eucarióticas se relaciona con diversas proteínas, lo que produce una estructura denominada cromatina.
- Gran parte del DNA se asocia con proteínas histona para formar una estructura llamada nucleosoma, que consta de un octámero de histonas alrededor del cual se envuelven alrededor de 150 bp de DNA.
- Las histonas están sujetas a una gama extensa de modificaciones covalentes dinámicas que tienen importantes consecuencias reguladoras.
- Los nucleosomas y las estructuras de orden superior formadas a partir de ellos sirven para compactar el DNA.
- El DNA en regiones activas desde el punto de vista transcripcional es relativamente más sensible al ataque por nucleasa *in vitro*; algunas regiones, llamadas sitios hipersensibles,

son excepcionalmente sensibles y a menudo se encuentra que contienen sitios de control de transcripción.

- El DNA muy activo en el aspecto transcripcional (los genes) suele estar agrupado en regiones de cada cromosoma. Dentro de estas regiones, los genes pueden estar separados por DNA inactivo en estructuras nucleosómicas. En eucariotas la unidad de transcripción —la parte de un gen que es copiada por la RNA polimerasa— a menudo consta de regiones de DNA codificadoras (exones) interrumpidas por secuencias interpuestas de DNA no codificador (intrones).
- Después de la transcripción, durante el procesamiento del RNA, los intrones se eliminan, y los exones se ligan entre sí para formar el mRNA maduro que aparece en el citoplasma; este proceso se denomina empalme del RNA.
- El DNA en cada cromosoma se replica exactamente de acuerdo con las reglas de la formación de pares de bases en el transcurso de la fase S del ciclo celular.
- Cada cadena de la doble hélice se replica de modo simultáneo pero mediante mecanismos un poco diferentes. Un complejo de proteínas, incluso la DNA polimerasa, replica la cadena adelantada de manera continua en la dirección 5′ a 3′. La cadena retrasada se replica de modo discontinuo, en fragmentos cortos de 150 a 250 nucleótidos, en la dirección 3′ a 5′.
- La replicación de DNA es iniciada en sitios especiales llamados orígenes, u ori, y generan burbujas de replicación. Cada cromosoma contiene múltiples orígenes. Todo el proceso requiere alrededor de 9 h en una célula de ser humano típica, y sólo ocurre durante la fase S del ciclo celular.
- Diversos mecanismos en los que se emplean diferentes sistemas de enzimas reparan DNA celular dañado tras exposición de células a mutágenos químicos y físicos.

REFERENCIAS

Blanpain C, Mohrin M, Sotiropoulou PA, et al: DNA-damage response in tissue-specific and cancer stem cells. Cell Stem Cell 2011;8:16–29.

Bohgaki T, Bohgaki M, Hakem R: DNA double-strand break signaling and human disorders. Genome Integr 2010;1:15–29.

Campos EL, Fillingham J, Li G, et al: The program for processing newly synthesized histones H3.1 and H4. Nat Struct Mol Biol 2010;17:1343–1351.

Campos EL, Reinberg D: Histones: annotating chromatin. Annu Rev Genet 2009;43:559–599.

Dalal Y, Furuyama T, Vermaak D, et al: Structure, dynamics, and evolution of centromeric nucleosomes. Proc Nat Academy of Sciences 2007;104:41.

Deng W, Blobel GA: Do chromatin loops provide epigenetic gene expression states? Curr Opin Genet Develop 2010;20:548–554.

Encode Consortium: Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. Nature 2007;447:799.

Gilbert DM: In search of the holy replicator. Nature Rev Mol Cell Biol 2004;5:848.

Hakem R: DNA-damage repair; the good, the bad, and the ugly. EMBO J 2008;27:589–605.

Johnson A, O’Donnell M: Cellular DNA replicases: components and dynamics at the replication fork. Ann Rev Biochemistry 2005;74:283.

Krishnan KJ, Reeve AK, Samuels DC, et al: What causes mitochondrial DNA deletions in human cells? Nat Genet 2008;40:275.

Lander ES, Linton LM, Birren B, et al: Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 2001;409:860.

Luger K, Mäder AW, Richmond RK, et al: Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. Nature 1997;389:251.

Margueron R, Reinberg D: Chromatin structure and the inheritance of epigenetic information. Nat Rev Genet 2010;11:285–296.

Misteli T: Beyond the sequence: cellular organization of genome function. Cell 2007;128:787.

Misteli T, Soutoglou E: The emerging role of nuclear architecture in DNA repair and genome maintenance. Nat Rev Mol Cell Biol 2010;10:243–254.

Orr HT, Zoghbi, HY: Trinucleotide repeat disorders. Annu Rev Neurosci 2007;30:375.

Ponicsan SL, Kugel JF, Goodrich JA: Genomic gems: SINE RNAs regulate mRNA production. Curr Opin Genet Develop 2010; 20:149–155.

Sullivan, Blower MD, Karpen GH: Determining centromere identity: cyclical stories and forking paths. Nat Rev Genet 2001;2:584.

Takizawa T, Meaburn KJ, Misteli T: The meaning of gene positioning. Cell 2008;135:9–13.

Talbert PB, Henikoff S: Histone variants–ancient wrap artists of the epigenome. Nat Rev Mol Cell Biol 2010;11:264–275.

Venter JC, Adams MD, Myers EW, et al: The sequence of the human genome. Science 2002;291:1304.

Zaidi SK, Young DW, Montecino MA, et al: Mitotic bookmarking of genes: a novel dimension to epigenetic control. Nat Rev Genet 2010;11:583–589.

Zilberman D, Henikoff S: Genome wide analysis of DNA methylation patterns. Development 2007;134:3959.

CAPÍTULO

36

Síntesis, procesamiento y modificación del RNA

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir las moléculas involucradas en la síntesis de RNA, y el mecanismo de esta última.
- Explicar cómo las RNA polimerasas dependientes de DNA eucarióticos, en colaboración con una gama de factores accesorios específicos, pueden transcribir de manera diferencial el DNA genómico para producir moléculas precursoras de mRNA específicas.
- Describir la estructura de precursores de mRNA eucarióticos, que están altamente modificados.
- Apreciar el hecho de que casi todos los genes que codifican para mRNA de mamífero están interrumpidos por múltiples secuencias no codificadoras de proteína llamadas intrones, que están intercaladas entre las regiones codificadoras de proteína llamadas exones.
- Explicar que puesto que el RNA de intrón no codifica para proteína, el RNA intrónico debe eliminarse de manera específica y exacta para generar mRNA funcionales a partir de las moléculas precursoras de mRNA en una serie de eventos moleculares precisos llamados empalme de RNA.
- Explicar los pasos y las moléculas que catalizan el empalme de mRNA, proceso que convierte las moléculas precursoras de mRNA con modificación terminal en mRNA que son funcionales para traducción.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La síntesis de una molécula de RNA a partir de DNA es un proceso complejo que incluye una enzima del grupo de las RNA polimerasas, y diversas proteínas relacionadas. Los pasos generales requeridos para sintetizar la transcripción primaria son inicio, alargamiento y terminación; se conoce más acerca del inicio. Han sido identificadas varias regiones de DNA (por lo general localizadas torrente arriba desde el sitio de inicio) y factores proteínicos que se unen a estas secuencias para regular el comienzo de la transcripción. Ciertos RNA —en especial el RNA mensajero (mRNA)— tienen lapsos de vida muy diferentes en una célula. Las moléculas de RNA que se sintetizan en células de mamífero se sintetizan como moléculas precursoras que tienen que procesarse hacia RNA maduro, activo. Es importante entender los principios básicos de la síntesis y el metabolismo del mRNA, porque la modulación de este proceso da por resultado índices alterados de síntesis de proteína y, así, diversos cambios tanto metabólicos como fenotípicos. De este modo, todos los organismos se adaptan a cambios del ambiente. También de esta manera se establecen y mantienen las estructuras y funciones celulares diferenciadas. Los errores o cambios de la síntesis, el procesamiento, el empalme, estabilidad o función de las transcripciones de mRNA producen enfermedades.

EL RNA EXISTE EN CUATRO CLASES PRINCIPALES

Todas las células eucarióticas tienen cuatro clases principales de RNA (**cuadro 36-1**): RNA ribosómico (rRNA), mRNA, RNA de transferencia (tRNA), y RNA pequeños, los RNA nucleares pequeños (*small nuclear*, snRNA) y micro-RNA (miRNA). Los tres primeros participan en la síntesis de proteína, mientras que los RNA pequeños lo hacen en el empalme del mRNA y la modulación de la expresión de gen al alterar la función del mRNA. Estas diversas clases de RNA son diferentes en su diversidad, estabilidad y abundancia en las células.

CUADRO 36–1 Clases de RNA eucariótico

RNA	Tipos	Abundancia	Estabilidad
Ribosómico (rRNA)	28S, 18S, 5.8S, 5S	80% del total	Muy estable
Mensajero (mRNA)	~10^5 especies diferentes	2 a 5% del total	Inestable a muy estable
De transferencia (tRNA)	~60 especies distintas	~15% del total	Muy estable
RNA pequeños			
Nuclear pequeño (snRNA)	~30 especies diferentes	≤1% del total	Muy estable
Micro (miRNA)	100s–1 000	<1% del total	Estable

EL RNA SE SINTETIZA A PARTIR DE UNA PLANTILLA DE DNA POR UNA RNA POLIMERASA

Los procesos de síntesis de DNA y RNA son similares por cuanto comprenden: 1) los pasos generales del inicio, alargamiento y terminación con polaridad 5′ a 3′; 2) complejos de inicio de múltiples componentes, grandes, y 3) apego a las reglas de formación de pares de bases identificadas por Watson y Crick. Sin embargo, la síntesis de DNA y RNA difiere en varios aspectos importantes, entre ellos: 1) en la síntesis de RNA se usan ribonucleótidos en lugar de desoxirribonucleótidos; 2) la U reemplaza a la T como la base complementaria para A en el RNA; 3) la síntesis de RNA no incluye un iniciador, dado que las RNA polimerasas tienen la capacidad para iniciar la síntesis *de novo;* 4) sólo porciones del genoma se transcriben o copian de modo vigoroso hacia el RNA, mientras que todo el genoma debe copiarse, una vez y sólo una vez, durante la replicación del DNA, y 5) no hay una función de corrección de pruebas eficiente, muy activa, en el transcurso de la transcripción del RNA.

El proceso de la síntesis de RNA a partir de una plantilla de DNA se ha caracterizado mejor en procariotas. Aun cuando en células de mamífero la regulación de la síntesis de RNA y el procesamiento postranscripcional de RNA son diferentes de los que ocurren en procariotas, el proceso de síntesis de RNA en sí es bastante similar en estas dos clases de organismos. En consecuencia, la descripción de las síntesis de RNA en procariotas, en los cuales se entiende mejor, es aplicable a eucariotas aun cuando las enzimas comprendidas y las señales reguladoras, aunque vinculadas, son diferentes.

La cadena plantilla de DNA se transcribe

La secuencia de ribonucleótidos en una molécula de RNA es complementaria a la secuencia de desoxirribonucleótidos en una cadena de la molécula de DNA bicatenaria (figura 34-8). La cadena que se transcribe o copia hacia una molécula de RNA se denomina **cadena plantilla** del DNA; la otra cadena del DNA, la **cadena no plantilla**, suele llamarse **cadena codificadora** de ese gen. Se denomina así porque, con la excepción de cambios de T por U, corresponde con precisión a la secuencia de la transcripción primaria de RNA mensajero, que codifica para el producto (proteína) del gen. En el caso de una molécula de DNA bicatenaria que contiene muchos genes, la cadena plantilla para cada gen no será necesariamente la misma cadena de la doble hélice de DNA (**figura 36-1**). De esta manera, una cadena dada de una molécula de DNA bicatenario servirá como la cadena plantilla para algunos genes y como la cadena codificadora para otros genes. Nótese que la secuencia de nucleótidos de una transcripción de RNA será la misma (excepto por U que reemplaza a T) que la de la cadena codificadora. La información en la cadena plantilla se lee en la dirección 3′ a 5′. Aun cuando no se muestra en la figura 36-1, hay casos de genes embebidos dentro de otros genes.

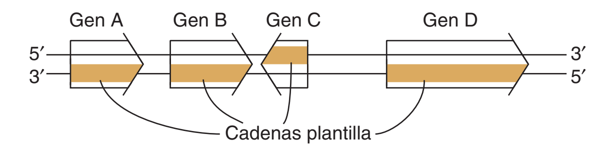


FIGURA 36–1 Los genes pueden transcribirse a partir de ambas cadenas de DNA. Las puntas de flecha indican la dirección de la transcripción (polaridad). Note que la cadena plantilla siempre se lee en la dirección 3′ a 5′. La cadena opuesta se llama cadena codificadora porque es idéntica (salvo por cambios de T por U) a la transcripción de mRNA (la transcripción primaria en células eucarióticas) que codifica para el producto proteínico del gen.

La RNA polimerasa dependiente de DNA inicia la transcripción de un sitio distinto, el promotor

La RNA polimerasa dependiente de DNA es la enzima que se encarga de la polimerización de ribonucleótidos hacia una secuencia complementaria a la cadena plantilla del gen (**figuras 36-2** y **36-3**). La enzima se fija a un sitio específico —el promotor— sobre la cadena plantilla. Esto va seguido por comienzo de la síntesis de RNA en el punto de inicio, y el proceso continúa en tanto no se llega a una secuencia de terminación (figura 36-3). Una **unidad de transcripción** se define como la región del DNA que incluye las señales para el inicio, el alargamiento y la termi-

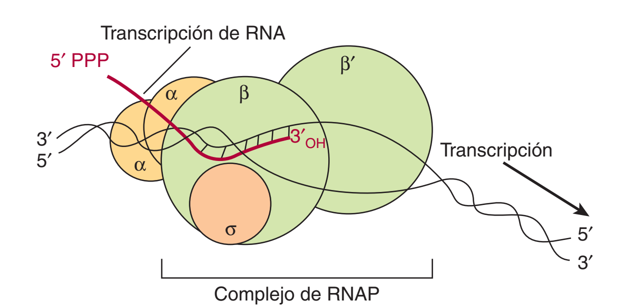


FIGURA 36–2 La RNA polimerasa (RNAP) cataliza la polimerización de ribonucleótidos hacia una secuencia de RNA que es complementaria a la cadena plantilla del gen. La transcripción de RNA tiene la misma polaridad (5′ a 3′) que la cadena codificadora, pero contiene U en lugar de T. La RNAP de *E. coli* consta de un complejo central de dos subunidades alfa y dos subunidades β (β y β′). La holoenzima contiene la subunidad σ unida al montaje central $\alpha_2\beta\beta'$. La subunidad ω no se muestra. La "burbuja" de transcripción es un área de aproximadamente 20 bp de DNA fusionado, y todo el complejo cubre 30 a 75 bp, dependiendo de la conformación de la RNAP.

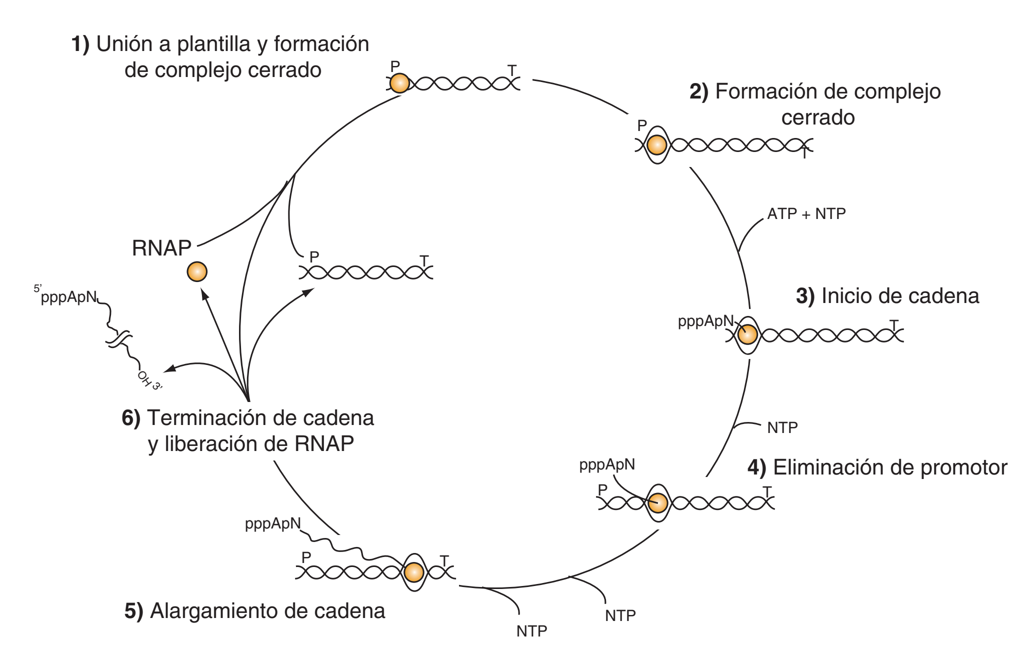


FIGURA 36–3 **El ciclo de transcripción.** La transcripción puede describirse en seis pasos: **1) unión a plantilla y formación del complejo de RNA polimerasa promotor cerrado:** la RNA polimerasa (RNAP) se une al DNA y después localiza un promotor (**P**). **2) Formación del complejo de promotor abierto:** una vez unida al promotor, la RNAP fusiona las dos cadenas de DNA para formar un complejo promotor abierto; este complejo también se denomina el complejo de preinicio o PIC. La separación de cadena permite a la polimerasa tener acceso a la información codificadora en la cadena plantilla de DNA. **3) Inicio de cadena:** usando la información de codificación de la RNAP plantilla cataliza el acoplamiento de la primera base (a menudo una purina) al segundo ribonucleósido trifosfato, dirigido por plantilla, para formar un dinucleótido (en este ejemplo forma el dinucleótido 5′ $pppApN_{OH}$ 3′). **4) Eliminación del promotor:** después de que la longitud de la cadena de RNA alcanza ~10 a 20 nt, la polimerasa pasa por un cambio conformacional y entonces es capaz de alejarse del promotor, y transcribir la unidad de transcripción. **5) Alargamiento de cadena:** se añaden residuos sucesivos al 3′-OH terminal de la molécula de RNA naciente en tanto no se encuentra una señal de terminación de la transcripción (T). **6) Terminación de la cadena y liberación de la RNAP:** cuando encuentra el sitio de terminación de la transcripción la RNAP pasa por otro cambio conformacional que lleva a liberación de la cadena de RNA completada, la plantilla de DNA y la RNAP. La RNAP puede volver a unirse a DNA empezando el proceso de búsqueda de promotor, y el ciclo se repite. Note que todos los pasos en el ciclo de transcripción son facilitados por proteínas adicionales, y de hecho a menudo están sujetos a regulación por factores de acción positiva, o negativa, o ambas.

nación de la transcripción. El producto RNA, que se sintetiza en la dirección 5′ a 3′, es el **transcrito primario**. Los índices de transcripción varían de un gen a otro, pero pueden ser bastante altos. En la **figura 36-4** se presenta una micrografía electrónica de transcripción en acción. En procariotas, esto puede representar el producto de varios genes contiguos; en células de mamífero, regularmente representa el producto de un gen único. Si una unidad de transcripción sólo contiene un gen único, los términos 5′ de la transcripción de RNA primaria y el RNA citoplásmico maduro son idénticos. De este modo, **el punto inicial de transcripción corresponde al nucleótido 5′ del mRNA**. Esto se designa posición +1, al igual que el nucleótido correspondiente en el DNA. Los números aumentan conforme la secuencia procede *torrente abajo* desde el sitio de inicio. Esta convención facilita localizar regiones particulares, como límites de intrón y exón. El nucleótido en el promotor adyacente al sitio de inicio de la transcripción en la dirección torrente arriba se designa −1, y estos números negativos se incrementan a medida que la secuencia procede *torrente arriba*, alejándose del sitio de inicio. El sistema numérico +/– proporciona una manera convencional de definir la ubicación de elementos reguladores en el promotor.

Los transcritos primarios generados por la RNA polimerasa II —una de las tres RNA polimerasas dependientes de DNA nucleares distintas en eucariotas— quedan cubiertos con el capuchón de 7-metilguanosina trifosfato (figura 34-10), recubrimientos que persisten y a la postre aparecen sobre el extremo 5′ de mRNA citoplásmico maduro. Estas cubiertas se requieren para el procesamiento subsiguiente de la transcripción primaria hacia mRNA, para la traducción del mRNA, y para la protección de mRNA contra ataque exonucleolítico.

La RNA polimerasa dependiente de DNA bacteriano es una enzima de múltiples subunidades

La RNA polimerasa dependiente de DNA (RNAP; RNApol) de la bacteria *Escherichia coli* existe como un complejo central de alrededor de 400 kDa, que consta de dos subunidades α idénticas, similares a las subunidades β y β′, y una subunidad ω. La subunidad β se une a iones de Mg^{2+}, y compone la subunidad catalítica (figura 36-2). El complejo central de la RNA polimerasa, $\beta\beta'\alpha_2\omega$, a menudo llamada E, se asocia con un factor proteínico específico (el factor sigma [σ]) para formar la holoenzima, $\beta\beta'\alpha_2\omega\sigma$, o Eσ. La subunidad σ ayuda a la enzima central a reconocer y unirse a la secuencia de desoxinucleótido específica de la región promotora (**figura 36-5**) para formar el **complejo de preinicio** (**PIC**). En todas las especies bacterianas hay múltiples genes distintos que codifican para el factor σ. Los factores σ tienen una función doble en el proceso de reconocimiento de promotor; la asociación σ con la RNA polimerasa central disminuye su afinidad por el DNA en sitios no promotores, mientras que al mismo tiempo aumenta la afinidad de la holoenzima por el pro-

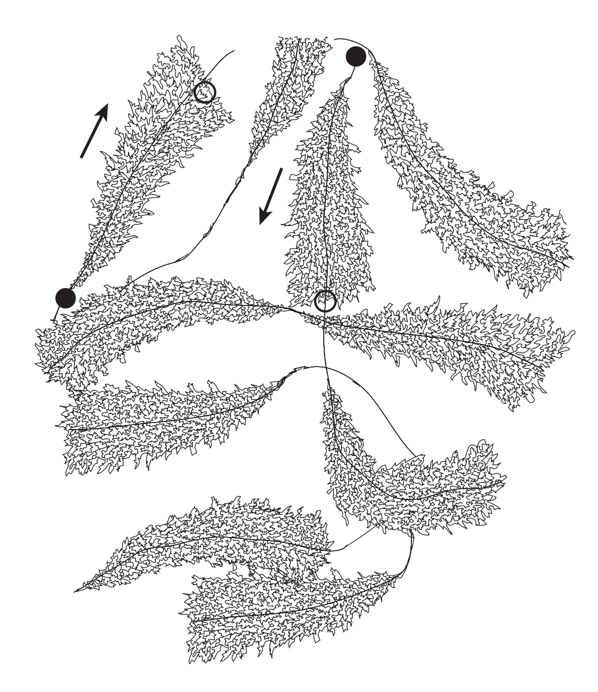


FIGURA 36–4 Representación esquemática de una fotomicrografía electrónica de múltiples copias de genes de rRNA de anfibio en el proceso de ser transcritos. El aumento es de alrededor de 6 000×. Note que la longitud de las transcripciones se incrementa conforme las moléculas de RNA polimerasa progresan a lo largo de los genes que codifican para rRNA individuales desde sitios de inicio de transcripción (círculos negros) hasta sitios de terminación de la transcripción (circunferencias). La RNA polimerasa I (que no se visualiza aquí) está en la base de las transcripciones de RNA naciente. De este modo, el extremo proximal del gen transcrito tiene transcripciones cortas fijas a él, mientras que transcripciones de mucho mayor tamaño están fijas al extremo distal del gen. Las flechas indican la dirección (5′ a 3′) de la transcripción.

motor en el DNA. Los múltiples factores σ compiten para interactuar con RNA polimerasa central limitante (**E**). Cada uno de estos factores σ actúa como una proteína reguladora que modifica la **especificidad de reconocimiento del promotor** de la holoenzima RNA polimerasa única resultante (es decir, $E\sigma_1$, $E\sigma_2$,...). La aparición de diferentes factores σ y su relación con el complejo central de la RNA polimerasa que forma nuevas formas de holoenzima, puede correlacionarse temporalmente con diversos programas de expresión de gen en sistemas procarióticos, como esporulación, crecimiento en diversas fuentes con poco contenido de nutriente, y la respuesta a choque térmico.

Las células de mamífero poseen tres RNA polimerasas dependientes de DNA nucleares distintas

En el **cuadro 36-2** se describen las propiedades nucleares de las polimerasas de mamífero. Cada una de estas RNA polimerasas dependientes de DNA se encarga de la transcripción de diferentes grupos de genes. El tamaño de las RNA polimerasas varía desde MW de 500 000 hasta 600 000. Estas enzimas muestran perfiles de subunidades más complejos que las RNA polimerasas procarióticas. Todas tienen dos subunidades grandes, y varias subunidades de menor tamaño —hasta 14 en el caso de la RNA pol III—. Empero, las subunidades de la RNA polimerasa eucariótica muestran extensas homologías de secuencia de aminoácido con RNA polimerasas procarióticas. Recientemente se ha mostrado que esta homología se extiende hasta el nivel de estructuras tridimensionales. Aún no se entienden por completo las funciones de cada una de las subunidades.

Una toxina peptídica del hongo *Amanita phalloides*, α-amanitina, es un inhibidor diferencial específico de las RNA polimerasas dependientes de DNA nucleares eucarióticas y, como tal, ha resultado ser un potente instrumento de investiga-

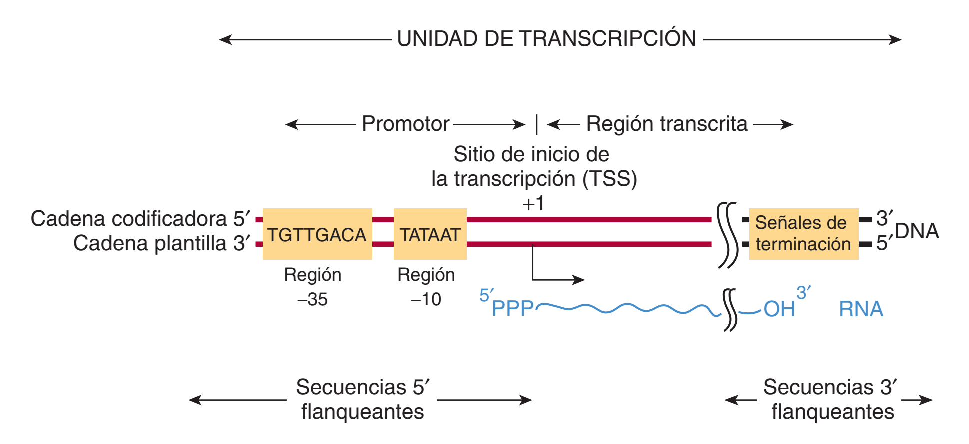


FIGURA 36–5 Los promotores bacterianos, como los de *E. coli* mostrados aquí, comparten dos regiones de secuencia de nucleótido altamente conservada. Estas regiones están situadas 35 y 10 bp torrente arriba (en la dirección 5′ de la cadena codificadora) desde el sitio de inicio de la transcripción (**TSS**), que se indica como +1. Por convención, todos los nucleótidos torrente arriba del sitio de inicio de la transcripción (en +1) se numeran en un sentido negativo y se denominan secuencias 5′-flanqueantes, mientras que las secuencias torrente abajo se enumeran en un sentido positivo con el TSS como +1. También por convención, los elementos de secuencia reguladora de DNA promotor, como los elementos de secuencia –35 y TATA se describen en la dirección 5′-3′, y se dice que están en la cadena codificadora. Sin embargo, estos elementos sólo funcionan en DNA bicatenario. Empero, otros elementos reguladores de la transcripción a menudo pueden actuar de una manera independiente de la dirección, y esos elementos *cis* se dibujan en consecuencia en cualquier esquema (véase también la figura 36-8). Note que el transcrito producido a partir de esta unidad de transcripción tiene la misma polaridad o "sentido" (esto es, la orientación 5′-3′) que la cadena codificadora. Los elementos *cis* de terminación residen en el extremo de la unidad de transcripción (véanse más detalles en la figura 36-6). Por convención, las secuencias torrente abajo del sitio en el cual ocurre la terminación de la transcripción se denominan secuencias 3′-flanqueantes.

CUADRO 36–2 Nomenclatura y propiedades de RNA polimerasas dependientes de DNA nucleares de mamífero

Forma de RNA polimerasa	Sensibilidad a la α-amanitina	Productos importantes
I	Insensible	rRNA
II	Sensibilidad alta	mRNA, miRNA, snRNA
III	Sensibilidad intermedia	tRNA, rRNA 5s

ción (cuadro 36-2). La α-amanitina bloquea la translocación de la RNA polimerasa durante la formación de enlace fosfodiéster.

LA SÍNTESIS DE RNA ES UN PROCESO CÍCLICO E INVOLUCRA INICIO, ALARGAMIENTO Y TERMINACIÓN DE CADENA DE RNA

El proceso de síntesis de RNA en bacterias (figura 36-3) es cíclico y comprende múltiples pasos. Primero la holoenzima RNA polimerasa (E-σ) debe unirse al DNA y localizar un promotor (P; figura 36-3). Una vez que el promotor es localizado, el complejo de Eσ-DNA promotor pasa por un cambio conformacional dependiente de la temperatura, y desenrolla o funde el DNA que está en el sitio de inicio de la transcripción y alrededor del mismo (en +1). Dicho complejo se llama **complejo de preinicio**, o **PIC**. Este desenrollamiento permite que el sitio activo del Eσ tenga acceso a la cadena plantilla, que por supuesto dicta la secuencia de ribonucleótidos que va a polimerizarse hacia RNA. A continuación, el primer nucleótido (típicamente una purina, aunque no siempre) se asocia con el sitio de unión a nucleótido en la subunidad β de la enzima, y en presencia del siguiente nucleótido apropiado unido a la polimerasa, la RNAP cataliza la formación del primer enlace fosfodiéster, y la cadena naciente ahora está fija al sitio de polimerización en la subunidad β de la RNAP; esta reacción se llama **inicio**. Debe notarse la analogía con los sitios A y P en el ribosoma (figura 37-9, abajo). El dinucleótido naciente retiene el 5′-trifosfato del nucleótido iniciador (figura 36-3, ATP).

La RNA polimerasa sigue incorporando nucleótidos 3 a ~10, punto en el cual la polimerasa pasa por otro cambio conformacional y se aleja del promotor; esta reacción se llama **eliminación de promotor**. A continuación empieza la **fase de alargamiento**, en la cual la molécula de RNA naciente crece 5′-3′ de forma consecutiva a la incorporación continua de NTP de manera cíclica, antiparalela a su plantilla. La enzima polimeriza los ribonucleótidos en la secuencia específica dictada por la cadena plantilla, e interpretada mediante las reglas de formación de pares de bases de Watson-Crick. Se libera pirofosfato después de cada ciclo de polimerización. Al igual que para la síntesis de DNA, este pirofosfato (PP_i) es degradado con rapidez a 2 mol de fosfato inorgánico (P_i) por medio de pirofosfatasas ahí presentes, lo que proporciona irreversibilidad a la reacción sintética general. La decisión: permanecer en el promotor en un estado equilibrado o detenido, o transición hacia alargamiento, parece ser un paso regulador importante en la transcripción de gen que codifica para mRNA tanto procariótico como eucariótico.

Conforme el complejo de **alargamiento** que contiene a la RNA polimerasa avanza a lo largo de la molécula de DNA, debe ocurrir **desenrollamiento de DNA** con el fin de proporcionar acceso para la formación de par de bases apropiada para los nucleótidos de la cadena codificadora. La extensión de esta burbuja de transcripción (esto es, desenrollamiento de DNA) es constante de principio a fin de la transcripción, y se ha estimado que es de aproximadamente 20 pares de bases por cada molécula de polimerasa. Así, parece ser que el tamaño de la región de DNA desenrollado está dictado por la polimerasa y es independiente de la secuencia de DNA en el complejo. La RNA polimerasa tiene una actividad intrínseca de "desenrollasa" que abre la hélice de DNA (véase la formación de PIC antes). El hecho de que la doble hélice de DNA deba desenrollarse, y las cadenas separarse al menos de manera transitoria para la transcripción, implica alguna alteración de la estructura del nucleosoma de células eucarióticas. La topoisomerasa precede y sigue a la RNAP que está progresando, a fin de evitar la formación de tensiones de superhélice que servirían para incrementar la energía necesaria para desenrollar el DNA plantilla adelante de la RNAP.

La **terminación** de la síntesis de la molécula de RNA en bacterias es señalada por una secuencia en la cadena plantilla de la molécula de DNA—una señal que es reconocida por una **proteína de terminación, el factor rho (ρ)**—. Rho es una helicasa estimulada por RNA, dependiente de ATP, que altera el complejo de alargamiento de la transcripción ternario compuesto por RNA polimerasa-RNA naciente y DNA. En algunos casos, la RNAP bacteriana puede reconocer de manera directa señales de terminación codificadas por DNA (figura 36-3; T) sin ayuda del factor rho. Después de la terminación de la síntesis del RNA, la enzima se separa de la plantilla de DNA y probablemente se disocia hacia la enzima central libre y factor libre. Con la ayuda de otro factor σ, a continuación la enzima central reconoce un promotor en el cual comienza la síntesis de una nueva molécula de RNA. En células eucarióticas no se ha conseguido una comprensión plena de la terminación, pero las proteínas que catalizan el procesamiento, terminación y poliadenilación de RNA parecen cargarse sobre la RNAP (RNA polimerasa) II poco después del inicio (véase más adelante). Más de una molécula de RNA polimerasa puede transcribir de manera simultánea la misma cadena plantilla de un gen, pero el proceso está modulado por fases y espaciado de modo que en cualquier momento cada una está transcribiendo una parte diferente de la secuencia de DNA (figuras 36-1 y 36-4).

PROTEÍNAS UNIDAS A CIERTAS SECUENCIAS DE DNA CONTROLAN LA FIDELIDAD Y FRECUENCIA DE LA TRANSCRIPCIÓN

El análisis de la secuencia de DNA de genes específicos ha permitido el reconocimiento de varias secuencias importantes en la transcripción de gen. A partir del gran número de genes bacterianos estudiados, es posible construir modelos de consenso de señales de inicio y terminación de transcripción.

La pregunta "¿de qué manera la RNAP encuentra el sitio correcto para iniciar la transcripción?" no es trivial cuando se considera la complejidad del genoma. *E. coli* tiene 4×10^3 sitios

de inicio de transcripción (o sea, promotores de gen) en 4.2 × 10^6 pares de base (bp) de DNA. La situación es aún más compleja en seres humanos, en los cuales hasta 10^5 sitios de inicio de transcripción están distribuidos en 3 × 10^9 bp de DNA. La RNAP puede unirse, con baja afinidad, a muchas regiones de DNA, pero escanea la secuencia de DNA —a un índice ≥10^3 bp/s— en tanto no reconoce ciertas regiones específicas del DNA a las cuales se une con mayor afinidad. Estas regiones se denominan promotores, y es la asociación de RNAP con promotores lo que asegura el inicio exacto de la transcripción. El proceso de reconocimiento-utilización del promotor es el blanco para la regulación tanto en bacterias como en seres humanos.

Los promotores bacterianos son relativamente simples

Los promotores bacterianos tienen alrededor de 40 nucleótidos (40 bp o cuatro vueltas de la doble hélice de DNA) de largo, una región suficientemente pequeña como para que sea cubierta por una molécula de RNA holopolimerasa de *E. coli*. En un promotor de consenso hay dos elementos de secuencia cortos, conservados. Aproximadamente 35 bp torrente arriba del sitio de inicio de la transcripción hay una secuencia de consenso de ocho pares de nucleótidos (consenso: 5′-TGTTGACA-3′) a los cuales la RNAP se une para formar el llamado **complejo cerrado**. Más proximal al sitio de inicio de la transcripción —alrededor de 10 nucleótidos torrente arriba— hay una secuencia rica en A+T de seis pares de nucleótidos (consenso: 5′-TATAAT-3′). Juntos, estos elementos de secuencia conservados comprenden el promotor, y se muestran de modo esquemático en la figura 36-5. Esta última secuencia tiene una temperatura de fusión baja debido a su carencia de pares de nucleótido GC. De esta manera, se cree que la denominada **secuencia (o "caja") TATA** facilita la disociación de las dos cadenas de DNA de modo que la RNA polimerasa unida a la región promotora puede tener acceso a la secuencia de nucleótidos de su cadena plantilla inmediatamente torrente abajo. Una vez que sucede este proceso, la combinación de RNA polimerasa más un promotor se llama **complejo abierto**. Otras bacterias tienen secuencias de consenso un poco diferentes en sus promotores, pero en general todas tienen dos componentes para el promotor; éstos tienden a estar en la misma posición respecto al sitio de inicio de la transcripción, y en todos los casos las secuencias entre los dos elementos promotores no tienen similitud pero todavía **proporcionan funciones de espaciamiento cruciales** que facilitan el reconocimiento de secuencias −35 y −10 por la holoenzima RNA polimerasa. Dentro de una célula bacteriana, diferentes grupos de genes suelen estar regulados de manera coordinada. Un modo importante en que se logra esto es por medio del hecho de que estos genes corregulados comparten secuencias promotoras −35 y −10 particulares. Estos promotores singulares son reconocidos por diferentes factores σ unidos a RNA polimerasa central (esto es, $E\sigma_1$, $E\sigma_2$,…).

Las **señales de terminación** de transcripción dependientes de rho en *E. coli* también parecen tener una secuencia de consenso separada (**figura 36-6**). Puede observarse que la secuencia de consenso conservada, que cuenta con unos 40 pares de nucleótidos de longitud, contiene una repetición invertida dividida en secciones o interrumpida, seguida por una serie de pares de bases AT. A medida que la transcripción procede por dicha repetición, la transcripción que se genera puede formar la estructura de la horquilla intramolecular que también se describe en la figura 36-6.

La transcripción continúa hacia la región AT, y con la ayuda de la proteína de terminación ρ la RNA polimerasa se detiene, se disocia de la plantilla de DNA, y libera el transcrito naciente.

Tal como se considera con detalle en el capítulo 38, la transcripción de gen bacteriana está controlada por medio de la acción de proteínas represoras y activadoras. Estas proteínas típicamente se unen a secuencias de DNA singulares y específicas que se encuentran adyacentes a promotores. Estos represores y activadores afectan la capacidad de la RNA polimerasa para unirse al promotor en el DNA, o formar complejos abiertos, o

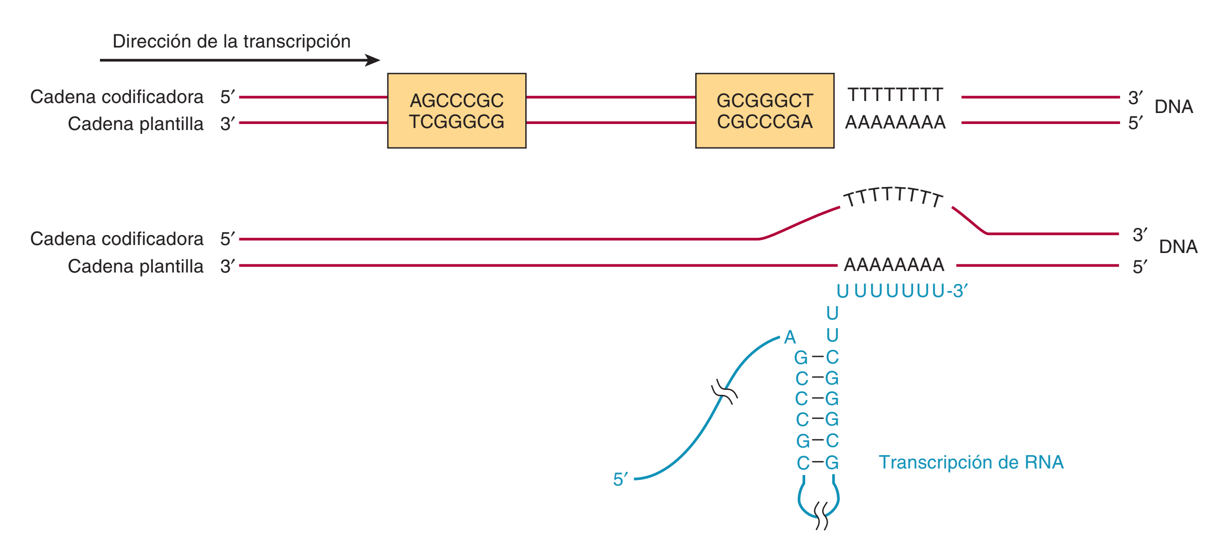


FIGURA 36–6 La señal de terminación de la transcripción bacteriana predominante contiene una repetición invertida, dividida en secciones (áreas encerradas en un cuadro) seguidas por un tramo de pares de bases AT (arriba). La repetición invertida, cuando se transcribe hacia RNA, puede generar la estructura secundaria en la transcripción de RNA (**abajo**). La formación de esta horquilla de RNA hace que la RNA polimerasa haga una pausa y luego el factor de terminación ρ (rho) interactúa con la polimerasa pausada e induce la terminación de cadena por algún mecanismo no esclarecido.

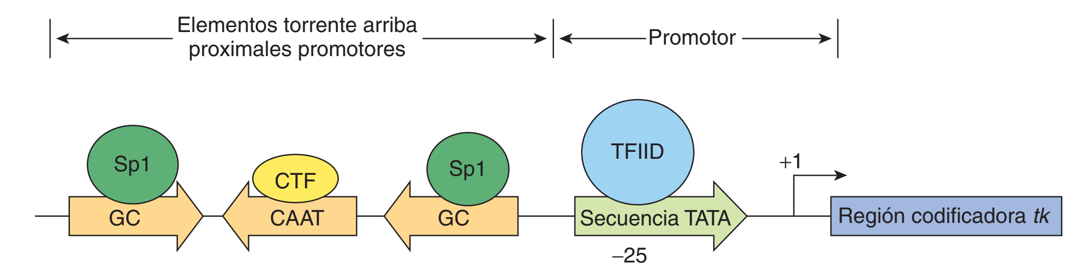


FIGURA 36–7 Elementos de transcripción y factores de unión en el gen que codifica para la timidina cinasa (*tk*) en el virus del herpes simple. La RNA polimerasa II dependiente de DNA (que no se muestra) se une a la región de la secuencia TATA (que es unida por el factor de transcripción TFIID) y TSS en +1 (ver también figura 36-9) para formar un complejo de preinicio de múltiples componentes que tiene la capacidad de iniciar la transcripción en un nucleótido único (+1). La frecuencia de este evento es aumentada por la presencia de elementos de acción *cis* torrente arriba (las secuencias GC y CAAT) localizados cerca del promotor (promotor proximal) o lejos del mismo (elementos distales; figura 36-8). Los elementos *cis* DNA proximal y distal son unidos por factores de transcripción de acción *trans*, en este ejemplo Sp1 y CTF (también denominado C/EBP, NF1, NFY). Estos elementos *cis* pueden funcionar de manera independiente a la orientación (**flechas**).

ambos. El efecto neto es estimular la formación de PIC y el inicio de la transcripción, o inhibirlos, lo cual bloquea o aumenta en consecuencia la síntesis de RNA específico.

Los promotores eucarióticos son más complejos

Está claro que las señales en el DNA que controlan la transcripción en células eucarióticas son de varios tipos. Dos tipos de elementos de secuencia son proximales al promotor. Uno de éstos define **dónde va a comenzar la transcripción** a lo largo del DNA, y el otro contribuye a los mecanismos que controlan la **frecuencia con la cual** va a ocurrir este evento. Por ejemplo, en el gen que codifica para la timidina cinasa del virus del herpes simple, que utiliza factores de transcripción de su huésped mamífero para su programa de expresión de gen temprano, hay un solo sitio de inicio de transcripción único, y la transcripción adecuada a partir de este sitio depende de una secuencia de nucleótido localizada 32 nucleótidos torrente arriba desde el sitio de inicio (es decir, en −32) (**figura 36-7**). Esta región tiene la secuencia de **TATAAAAG** y tiene notoria similitud con la **secuencia TATA** vinculada desde el punto de vista funcional que está localizada alrededor de 10 bp torrente arriba desde el sitio de inicio de mRNA procariótico (figura 36-5). La mutación o desactivación de la secuencia TATA reduce de manera notoria la transcripción de este y de muchos otros genes que contienen este elemento ***cis*-activo** de consenso (**figuras 36-7** y **36-8**). La secuencia TATA generalmente está localizada 25 a 30 bp torrente arriba desde el sitio de inicio de la transcripción en genes de mamífero que la contienen. La secuencia de consenso para una secuencia TATA es TATAAA, aunque se han caracterizado muchas variaciones. La secuencia TATA humana es unida por la **proteína de unión a TATA** (**TBP**) de 34 kDa, que es una subunidad en por lo menos dos complejos de múltiples subunidades, TFIID y SAGA/P-CAF. Las subunidades no TBP de TFIID son proteínas llamadas **factores relacionados con TBP** (**TAF**).

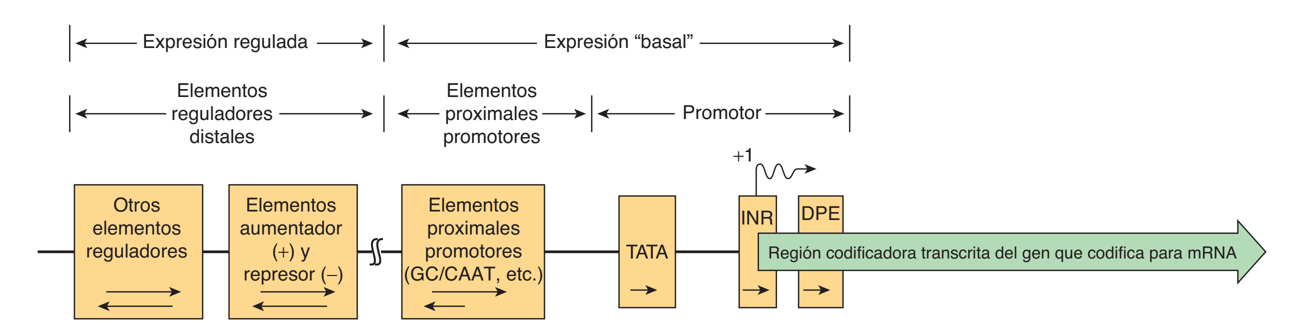


FIGURA 36–8 Diagrama que muestra las regiones de control de la transcripción en un gen eucariótico productor de mRNA hipotético transcrito por la RNA polimerasa II. Ese gen puede dividirse en sus regiones codificadora y reguladora, según se define por el sitio de inicio de la transcripción (**flecha**; +1). La región codificadora contiene la secuencia de DNA que se transcribe hacia mRNA, que finalmente se traduce hacia proteína. La región reguladora consta de dos clases de elementos. Una clase se encarga de asegurar expresión basal. El "promotor", compuesto de la secuencia TATA o de elementos Inr o DPE, dirige a la RNA polimerasa II hacia el sitio correcto (fidelidad). Sin embargo, en ciertos genes o promotores que carecen de TATA, un elemento iniciador (Inr) o DPE puede dirigir a la polimerasa hacia este sitio. Otro componente, los elementos torrente arriba, especifica la frecuencia de inicio; esos elementos pueden ser proximales (50 a 200 bp) o distales (1 000 a 10^5 bp) al promotor, como se muestra. Entre los elementos proximales mejor estudiados está la secuencia CAAT, pero en diversos genes pueden usarse varios otros elementos (unidos por las proteínas transactivadoras Sp1, NF1, AP1, etc.). Los elementos distales incrementan la expresión o la reprimen; varios de estos elementos median la respuesta a diversas señales, entre ellas hormonas, choque por calor, metales pesados y sustancias químicas. La expresión específica para tejido también comprende secuencias específicas de esta clase. Las flechas dentro de las cajas indican la dependencia de todos los elementos de la orientación. Por ejemplo, los elementos proximales (la secuencia TATA, INR, DPE) deben estar en la orientación 5′ a 3′, mientras que los elementos proximales torrente arriba a menudo funcionan mejor en la orientación 5′ a 3′, pero algunos de ellos se pueden revertir. Las localizaciones de algunos elementos no están fijas en cuanto al sitio de inicio de la transcripción. En realidad, algunos elementos de los cuales depende la expresión regulada pueden estar localizados ya sea entremezclados con los elementos torrente arriba, o bien torrente abajo desde el sitio de inicio.

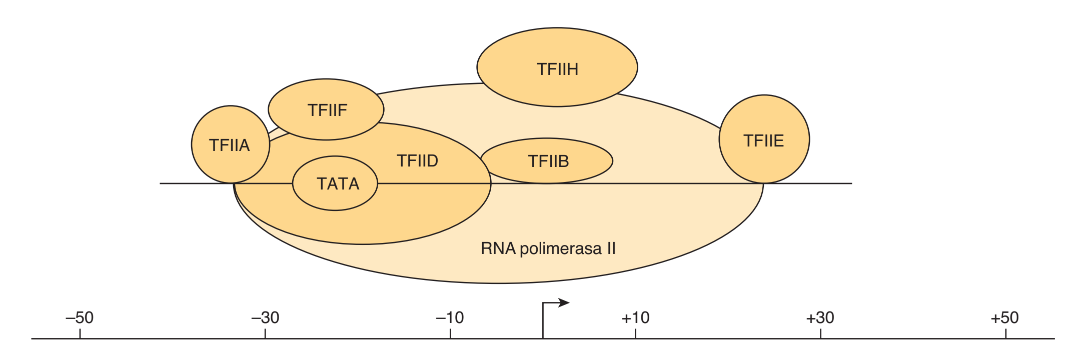


FIGURA 36–9 El complejo de transcripción basal eucariótico. La formación del complejo de transcripción basal empieza cuando el TFIID se une a la secuencia TATA. Dirige el montaje de varios otros componentes por medio de interacciones entre proteína y DNA, y entre una proteína y otra; TFIIA, B, E, F, H y polimerasa II (pol II). Todo el complejo abarca DNA desde la posición −30 hasta +30 respecto al sitio de inicio de transcripción (TSS, +1, marcado por la flecha doblada). El nivel atómico, estructuras derivadas de rayos X de RNA polimerasa II sola, y de subunidad TBP de TFIID unida al DNA promotor TATA en presencia de TFIIB o TFIIA, se han resuelto a resolución de 3 Å. Las estructuras de los complejos TFIID y TFIIH se han determinado mediante microscopia electrónica a resolución de 30 Å. De este modo, las estructuras moleculares de la maquinaria de transcripción están empezando a elucidarse. Gran parte de esta información estructural es congruente con los modelos aquí presentados.

Este complejo de TBP y TAF se llama TFIID. Se cree que la unión del complejo TFIID de TBP-TAF a la secuencia de caja TATA representa un primer paso en la formación del complejo de transcripción sobre el promotor.

Cierto número de genes eucarióticos que codifican para mRNA carecen de una secuencia consenso TATA. En esas circunstancias, elementos *cis* adicionales, una **secuencia iniciadora** (**Inr**), o el denominado elemento **promotor torrente abajo** (**DPE**), o todos o una combinación de los anteriores, dirigen la maquinaria de transcripción de la RNA polimerasa II hacia el promotor, y al hacerlo proporcionan transcripción basal que empieza desde el sitio correcto. El elemento Inr abarca el sitio de inicio (desde −3 hasta + 5) y consta de la secuencia consenso general TCA_{+1} G/T T T/C (A_{+1} indica el primer nucleótido transcrito). Las proteínas que se unen a Inr para dirigir la unión de pol II incluyen el TFIID. Los promotores que tienen tanto una secuencia TATA como una Inr pueden ser más fuertes o transcribirse de modo más vigoroso que los que únicamente tienen uno de estos elementos. El DPE tiene la secuencia consenso A/GGA/T CGTG, y está localizado aproximadamente 25 bp torrente abajo del sitio de inicio +1. Al igual que la Inr, las secuencias de DPE también son unidas por las subunidades TAF de TFIID. En un estudio de miles de genes eucarióticos codificadores para proteína, a grandes rasgos 30% contuvo una secuencia TATA y la Inr, 25% contuvo Inr y DPE, 15% contuvo los tres elementos, mientras que ~30% sólo contuvo la Inr.

Las secuencias por lo general justo torrente arriba del sitio de inicio determinan la frecuencia con la cual sucede un evento de transcripción. Las mutaciones en estas regiones aminoran 10 a 20 veces la frecuencia de inicios transcripcionales. Las secuencias GC y CAAT, así llamadas debido a las secuencias de DNA comprendidas, son típicas de estos elementos de DNA. Cada una de estas secuencias se une a una proteína específica, Sp1 en el caso de la secuencia GC, y CTF por la secuencia CAAT; ambas se unen mediante sus **dominios de unión a DNA** (**DBD**) separados (figura 36-7). La frecuencia de inicio de transcripción es una consecuencia de estas interacciones entre proteína y DNA, y de interacciones complejas entre dominios particulares de los factores de transcripción (distintos de los dominios DBD, denominados los **dominios de activación; AD**) de estas proteínas y el resto de la maquinaria de transcripción (RNA polimerasa II, los **factores basales** o **generales, GTF, TFIIA, B, D, E, F, H** y otros factores correguladores como Mediador, remodeladores de cromatina y factores modificadores de cromatina). (Véanse las **figuras 36-9** y **36-10**.) La interacción entre proteína y DNA en la secuencia TATA que incluye RNA polimerasa II y otros componentes de la maquinaria de transcripción basal asegura la fidelidad del inicio. Juntos, los elementos torrente arriba del promotor y *cis*-activo proximal al promotor confieren fidelidad y frecuencia de inicio en un gen. La secuencia TATA tiene un requerimiento en especial rígido tanto de posición como de orientación. Como en el caso de los promotores bacterianos, los cambios de una sola base en cualquiera de estos elementos *cis* pueden tener efectos notorios sobre la función al reducir la afinidad de unión de los factores *trans* alterados (TFIID/TBP o Sp1, CTF y factores similares). También es crucial el espaciado de la secuencia TATA, Inr y elementos promotores DPE.

Una tercera clase de elementos de secuencia puede aumentar o disminuir el índice de inicio de transcripción de genes eucarióticos. Estos elementos se llaman **aumentadores o represores** (**o silenciadores**), dependiendo de cómo afectan la síntesis de RNA. Se han encontrado en diversas ubicaciones tanto torrente arriba como torrente abajo del sitio de inicio de la transcripción, e incluso dentro de las porciones codificadoras de proteína transcritas de algunos genes. Los aumentadores y silenciadores pueden ejercer sus efectos cuando están ubicados a miles o incluso decenas de miles de bases de unidades de transcripción localizadas en el mismo cromosoma. Sorprende que los aumentadores y silenciadores pueden funcionar de una manera independiente de la orientación. Se han descrito literalmente cientos de estos elementos. En algunos casos, los requisitos de secuencia para unión están rígidamente restringidos; en otros, se permite considerable variación de secuencia. Algunas secuencias únicamente se unen a una proteína única, pero casi todas se unen a varias proteínas diferentes. Juntos, estos transfactores que se unen a elementos promotores *cis* distales proximales regulan la transcripción en respuesta a una vasta gama de señales biológicas. Esos eventos reguladores de la transcripción contribuyen de modo importante al control de la expresión de gen.

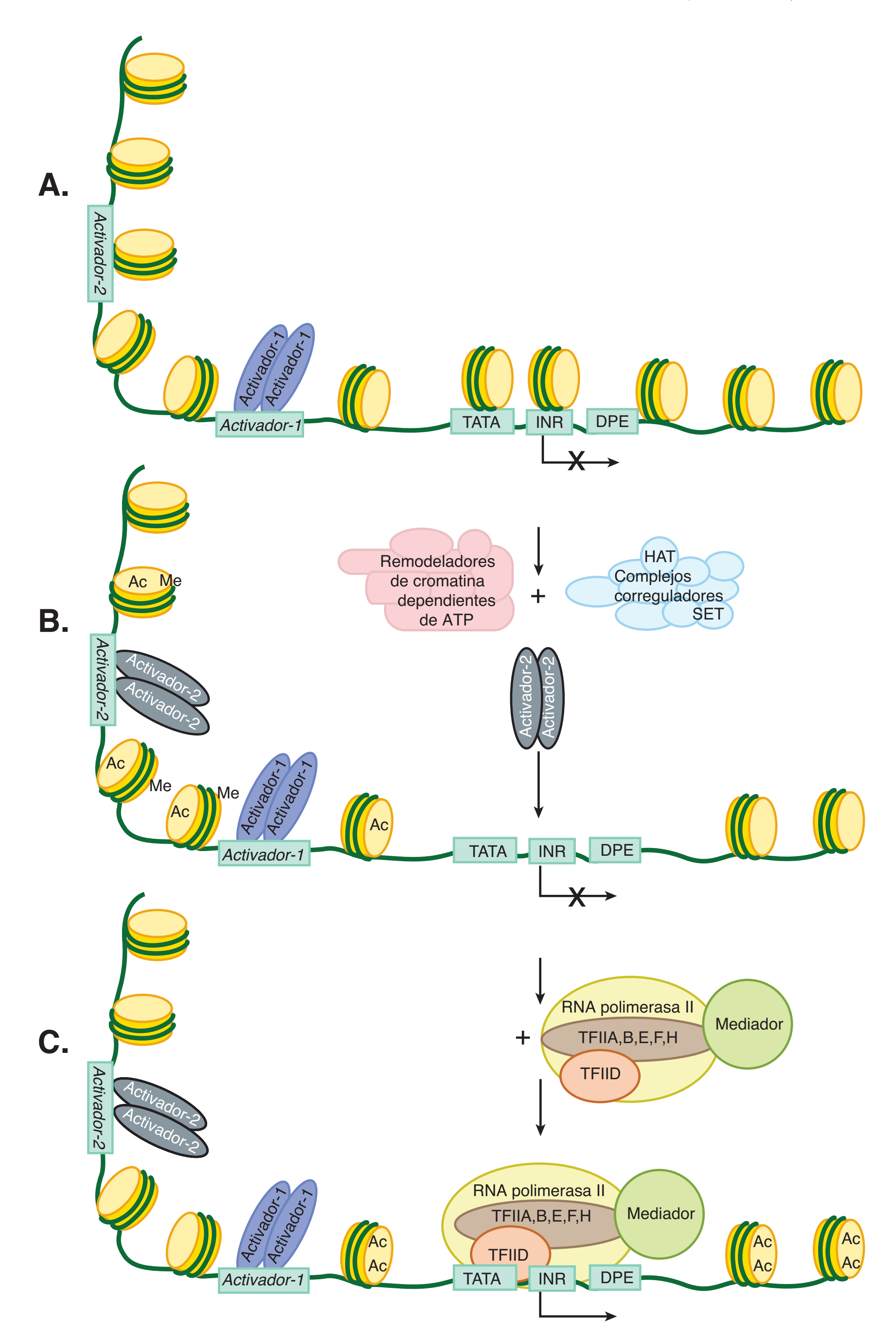


FIGURA 36–10 La evicción de nucleosoma por correguladores activos de cromatina facilita la formación de complejo de preinicio (PIC) y la transcripción. A) Un gen codificador de mRNA inactivo (véase X sobre TSS [la X de la figura se puede sustituir por TSS]) con un factor de transcripción dimérico único (activador-1; óvalos violeta) unido a su sitio de unión aumentador cognado (*activador-1*). Este elemento aumentador particular estuvo libre de nucleosoma y, por ende, disponible para interacción con su proteína de unión a activadora particular. Sin embargo, este gen aún es inactivo (X sobre sitio de inicio de la transcripción [TSS]) debido al hecho de que una porción de su aumentador (en esta ilustración el aumentador es bipartita y está compuesto de *activador-1* y *activador-2*, sitios de unión a DNA) *y* la totalidad del promotor están cubiertos por nucleosomas. **B)** El activador unido a DNA aumentador-1 interactúa con cualquiera de varios remodeladores de cromatina dependientes de ATP separados, y complejos correguladores modificadores de cromatina. Estos correguladores juntos tienen la capacidad de mover nucleosomas, o eliminarlos, o ambos (remodeladores dependientes de ATP), así como de modificar de manera covalente histonas nucleosomales usando acetilasas intrínsecas (HAT; que dan por resultado acetilación [Ac]) y metilasas (SET; dan lugar a metilación [Me], entre otras modificaciones postraduccionales [PTM], cuadro 35-1), portadas por subunidades de estos complejos. **C)** Así, los cambios resultantes de la posición de nucleosoma y la ocupación de nucleosoma permiten la unión al segundo dímero activador-2 a las secuencias de DNA *activador-2,* lo cual lleva a la unión de la maquinaria de transcripción (TFIIA, B, D, E, F, H; polimerasa II y mediador) al promotor (TATA-INR-DPE), y la formación de un PIC activo, lo que lleva a una transcripción activada.

Señales específicas regulan la terminación de la transcripción

Las **señales para la terminación** de la transcripción por RNA polimerasa II eucariótica sólo se entienden poco. Parece ser que las señales de terminación existen torrente muy abajo de la secuencia de codificación de genes eucarióticos. Por ejemplo, la señal de terminación de transcripción para la globina β de ratón ocurre en varias posiciones 1 000 a 2 000 bases más allá del sitio en el cual finalmente se añadirá la cola poli(A) de mRNA. Se sabe menos en cuanto al proceso de terminación o si participan factores de terminación específicos similares al factor ρ bacteriano. Con todo, se conoce que la formación del 3′ terminal del mRNA, que se genera después de la transcripción, está acoplada de alguna manera a eventos o estructuras formados en el momento y el sitio de inicio. Además, la formación de mRNA, y en este caso la formación del extremo 3′ depende de una estructura especial presente en el extremo C terminal de la subunidad mayor de RNA polimerasa II (el **dominio C terminal** o **CTD**; véase más adelante), y este proceso parece comprender al menos dos pasos, como sigue. Luego de que una RNA polimerasa II ha atravesado la región de la unidad de transcripción que codifica para el extremo 3′ de la transcripción, las RNA endonucleasas dividen la transcripción primaria en una posición alrededor de 15 bases 3′ de la secuencia de consenso **AAUAAA** que en transcripciones eucarióticas sirve como una señal de división y poliadenilación. Finalmente, esta terminal 3′ recién formada se poliadenila en el nucleoplasma, como se describe más adelante.

EL COMPLEJO DE TRANSCRIPCIÓN EUCARIÓTICO

Un aparato complejo que consta de hasta 50 proteínas únicas proporciona transcripción precisa y regulable de genes eucarióticos. Las enzimas RNA polimerasa (pol I, pol II y pol III) transcriben información contenida en la cadena plantilla de DNA hacia RNA. Estas polimerasas deben reconocer un sitio específico en el promotor para iniciar la transcripción en el nucleótido apropiado. Aun así, en contraste con la situación en procariotas, las RNA polimerasas eucariotas *in vitro* solas son incapaces de distinguir entre secuencias promotoras y otras regiones no promotoras del DNA. Todas las formas de RNA polimerasa eucariota requieren otras proteínas, conocidas como factores de transcripción generales o GTF. La RNA polimerasa II requiere TFIIA, B, D (o TBP), E, F y H tanto para facilitar la unión de la enzima específica para el promotor, como para la formación del complejo de preinicio (PIC). Las RNA polimerasas I y III requieren sus propios GTF específicos para polimerasa. Más aún, la RNA polimerasa II y los GTF no muestran respuesta a proteínas activadoras, y sólo pueden catalizar la transcripción basal o (no)-desregulada *in vitro.* Otro grupo de proteínas —los **coactivadores**, o **correguladores**— funcionan conjuntamente con proteínas transactivadoras de unión a DNA, o se comunican con Pol II/GTF para regular la tasa de transcripción (véase más adelante).

Formación del complejo de transcripción pol II

En bacterias, un complejo de factor σ-holoenzima polimerasa, Eσ, se une de manera selectiva al promotor en el DNA para formar el PIC. La situación es mucho más compleja en genes eucarióticos. Los genes codificadores de mRNA, que son transcritos por pol II, se describen como un ejemplo. En el caso de genes transcritos por pol II, la función de los factores σ es asumida por diversas proteínas. La formación del PIC necesita, además de pol II, varios de los denominados factores de transcripción general (GTF) llamados TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIE, TFIIF y TFIIH. Estos GTF sirven para promover la transcripción de RNA polimerasa II esencialmente en todos los genes. Algunos de estos GTF están compuestos de múltiples subunidades. El **TFIID**, que se **une al elemento promotor secuencia TATA mediante su subunidad TBP**, es el único de estos factores que independientemente es capaz de unión específica, de alta afinidad al promotor en el DNA. El TFIID consta de 15 subunidades, TBP y 14 factores asociados con TBP (TAF).

El TBP se une a la secuencia TATA en el surco menor del DNA (casi todos los factores de transcripción se unen en el surco mayor) y origina una flexión o acodamiento de aproximadamente 100 grados de la hélice de DNA. Se cree que esta flexión facilita la interacción de TAF con otros componentes del complejo de inicio de transcripción, el promotor eucariótico de múltiples componentes, y posiblemente con factores unidos a elementos torrente arriba. Aunque al principio definido como un componente sólo requerido para transcripción de promotores de gen pol II, el TBP, en virtud de su asociación con distintos grupos de TAF específicos para polimerasa, separados, también es un componente importante de los complejos de inicio de transcripción pol I y pol III, incluso si no contienen secuencias TATA.

La unión de TFIID marca un promotor específico para la transcripción. De varios pasos *in vitro* subsiguientes, el primero es la unión de TFIIA, y después de TFIIB, al complejo de TFIID-promotor. Esto da por resultado un complejo ternario estable que luego se ubica con mayor exactitud y más estrechamente unido en el sitio de inicio de la transcripción. Este complejo a continuación atrae y une el complejo de pol II-TFIIF al promotor. La adición de TFIIE y la de TFIIH son los pasos finales en el montaje del PIC. El TFIIE parece unirse al complejo con pol II-TFIIF, y a continuación se recluta TFIIH. Cada uno de estos eventos de unión extiende el tamaño del complejo, de modo que finalmente quedan cubiertos alrededor de 60 bp (desde −30 hasta +30 respecto a +1, el nucleótido desde el cual comienza la transcripción) (figura 36-9). El PIC ahora está completo y tiene capacidad de transcripción basal iniciada a partir del nucleótido correcto. En genes que carecen de una secuencia TATA, se requieren los mismos factores. En esos casos, la Inr o el DPE sirve para (véase figura 36-8) colocar al complejo en la posición adecuada para inicio preciso de la transcripción.

La accesibilidad del promotor y, por ende, la formación del PIC a menudo están moduladas por nucleosomas

En ciertos genes eucarióticos la maquinaria de transcripción (pol II, etc.) no puede tener acceso a las secuencias promotoras (es decir, TATA-INR-DPE) porque estos elementos promotores esenciales están envueltos en nucleosomas (figuras 35-2 y 35-3 y 36-10). Los nucleosomas represores sólo se eliminan después de que los factores de transcripción se unen al DNA potenciador torrente arriba del promotor, y reclutan factores remodelado-

res de cromatina y correguladores modificadores, como los factores Swi/Snf, SRC-1, p300/CBP (cap. 42) o P/CAF (figura 36-10). Una vez que el promotor está "abierto" luego de la disociación del nucleosoma, GTF y RNA polimerasa II pueden unirse e iniciar la transcripción del gen de mRNA. Note que la unión de transactivadores y correguladores puede ser sensible a, o controlar de manera directa, o ambas, el estado de modificación covalente de las histonas dentro de los nucleosomas en y alrededor del promotor y potenciador y, así, aumentar o disminuir la capacidad de todos los otros componentes requeridos para la formación de PIC para interactuar con un gen particular. Este denominado **código epigenético de modificaciones de histonas y proteína** puede contribuir de modo importante al control de la transcripción del gen. En realidad, las mutaciones en proteínas que catalizan (escritoras de código), eliminan (borradoras de código) o que se unen de manera diferencial (lectoras de código) a histonas modificadas pueden llevar a enfermedad en seres humanos.

La fosforilación activa a la pol II

La pol II eucariótica consta de 12 subunidades. Las dos subunidades de mayor tamaño, de 150 y 190 kDa, son homólogas a las subunidades β y β′ bacterianas. Además del número incrementado de subunidades, la pol II eucariótica difiere de su homóloga procariótica por cuanto tiene una serie de siete repeticiones con secuencia de consenso Tir-Ser-Pro-Tre-Ser-Pro-Ser en el carboxilo terminal de la subunidad pol II de mayor tamaño. Este **dominio de repetición carboxilo terminal** (**CTD**) tiene 26 unidades repetidas en la levadura de cerveza, y 52 unidades en células de mamífero. El CTD es un sustrato para varias enzimas (cinasas, fosfatasas, prolil isomerasas, glucosilasas). La fosforilación del CTD fue la primera modificación postraduccional (PTM) de CTD descubierta. El componente cinasa de TFIIH puede modificar el CTD. El CTD modificado de manera covalente es el sitio de unión para una amplia gama de proteínas, y se ha mostrado que interactúa con muchas enzimas modificadoras de mRNA y procesadoras del mismo, y proteínas de transporte nuclear. De este modo, la asociación de estos factores con el CTD de la RNA polimerasa II (y otros componentes de la maquinaria basal) sirve para acoplar el inicio de la transcripción con el empalme de mRNA, la formación del extremo 3′, y el transporte hacia el citoplasma (véase más adelante). La pol II se activa cuando se fosforila en los residuos Ser y Tre, y despliega menor actividad cuando el CTD se desfosforila. La fosforilación/desfosforilación de CTD es crucial para la eliminación del promotor, el alargamiento, la terminación, e incluso el procesamiento apropiado del mRNA. La pol II que carece de la cola CTD es incapaz de activar la transcripción, y las células que expresan pol II que carece de CTD son inviables. Esos resultados subrayan la importancia de este dominio.

La pol II puede asociarse con otras proteínas llamadas proteínas **Mediadoras o Med** para formar un complejo que a veces se denomina holoenzima pol II; este complejo puede formarse en el promotor o antes de la formación del PIC (véase más adelante). Las proteínas Med son esenciales para la regulación apropiada de la transcripción de pol II al desempeñar muchísimas

FIGURA 36–11 Modelos para la formación de un complejo de preinicio de polimerasa II de RNA. En la parte superior se muestra una unidad de transcripción codificadora de mRNA característica: sitio de inicio (TATA) promotor aumentador (flecha doblada) y región transcrita (ORF; marco de lectura abierto). Se ha mostrado que los PIC se forman al menos por medio de dos mecanismos: **A**) la unión por pasos de GTF, pol II y Mediador, o **B**) mediante la unión de un complejo de múltiples proteínas único compuesto de pol II, Med y los seis GTF. Las proteínas transactivadoras de unión a DNA se unen de manera específica a aumentadores y en parte facilitan la formación de PIC (o la función de PIC) al unirse de modo directo a las subunidades TFIID-TAF o subunidades Med de Mediador (que no se muestra, figura 36-10); el o los mecanismos moleculares por medio de los cuales esas interacciones entre una proteína y otra estimulan la transcripción todavía están sujetos a investigación intensa.

funciones, que tanto activan como reprimen la transcripción. De esta manera, el Mediador, al igual que TFIID, es un corregulador transcripcional (**figura 36-11**). Se han descrito formas complejas de la holoenzima RNA polimerasa II (pol II más Med) en células del ser humano que contienen más de 30 proteínas Med (Med 1 a Med 31).

La función de activadores y correguladores de la transcripción

Originalmente se consideró que el TFIID era una proteína única, la TBP. Aun así, algunas evidencias llevaron al importante descubrimiento de que el TFIID de hecho es un complejo que consta de TBP y las 14 TAF. La primera evidencia de que el TFIID era más complejo que las moléculas de la TBP provino de la observación de que la TBP se une a un segmento de DNA de 10 bp, inmediatamente sobre la secuencia TATA del gen, mientras que el holo-TFIID natural cubre una región de 35 bp o de mayor tamaño (figura 36-9). En segundo lugar, la TBP tiene una masa molecular de 20 a 40 kDa (dependiendo de la especie), mientras que el complejo de TFIID tiene una masa de aproximadamente 1 000 kDa. Finalmente, y quizá lo de mayor importancia, la TBP apoya la transcripción basal, no así la transcripción aumentada proporcionada por ciertos activadores, por ejemplo, Sp1 unido a la secuencia GC. Por otra parte, el TFIID apoya la transcripción tanto basal como aumentada por Sp1, Oct1, AP1, CTF, ATF, etc. (**cuadro 36-3**). Los TAF son esenciales para esta transcripción aumentada por activador. Probablemente hay varias formas de TFIID que difieren un poco en su complemento de TAF. Así, diferentes combinaciones de TAF con TBP —o uno de varios factores parecidos a TBP recién descubiertos (TLF)— se unen a diferentes promotores, e informes recientes sugieren que esto puede explicar la activación selectiva de genes para diversos promotores en células o tejidos, y las diferentes potencias de ciertos promotores. Los TAF, puesto que se necesitan para la acción de los activadores, suelen llamarse coactivadores o correguladores. De este modo, hay tres clases de factores de transcripción involucrados en la regulación de los genes pol II: pol II y GTF, correguladores, y activadores-represores de unión a DNA

CUADRO 36–3 Algunos de los elementos de control de transcripción de RNA polimerasa II de mamífero, sus secuencias de consenso, y los factores que se unen a ellos

Elemento	Secuencia de consenso	Factor
Secuencia TATA	TATAAA	TBP/TFIID
Secuencia CAAT	CCAATC	C/EBP*, NF-Y*
Secuencia GC	GGGCGG	Sp1*
	CAACTGAC	Myo D
	T/CGGA/CN$_5$GCCAA	NF1*
Octámero de Ig	ATGCAAAT	Oct1, 2, 4, 6*
AP1	TGAG/CTC/AA	Jun, Fos, ATF*
Respuesta sérica	GATGCCCATA	SRF
Choque por calor	(NGAAN)$_3$	HSF

Nota: una lista completa incluiría cientos de ejemplos. Los asteriscos significan que hay varios miembros de esta familia.

CUADRO 36–4 Tres clases de factores de transcripción comprendidas en la transcripción de gen que codifica para mRNA

Mecanismos generales	Componentes específicos
Componentes basales	RNA polimerasa II, TBP, TFIIA, B, D, E, F y H
Correguladores	TAF (TBP + TAF) = TFIID; ciertos genes Mediador, Med Modificadores de cromatina Remodeladores de cromatina
Activadores	SP1, ATF, CTF, AP1, etc.

(**cuadro 36-4**). La manera en que estas clases de proteínas interactúan para regir tanto el sitio como la frecuencia de transcripción es una interrogante de importancia fundamental e investigación activa. Se cree que los correguladores actúan como un puente entre los transactivadores de unión a DNA y pol II/GTF, y que modifican la cromatina.

Dos modelos pueden explicar el montaje del complejo de preinicio

La formación del PIC antes descrito se basa en la adición secuencial de componentes purificados según se observa por medio de experimentos *in vitro*. Una característica esencial de este modelo es que el montaje de PIC tiene lugar sobre una plantilla de DNA donde todas las proteínas de transcripción tienen fácil acceso al DNA. Por consiguiente, se cree que los activadores de la transcripción, que tienen dominios de unión y de activación de DNA autónomos (cap. 38), funcionan al estimular la formación de PIC. Aquí el TAF o los complejos mediadores se consideran factores que forman puentes que comunican entre los activadores unidos torrente arriba, y los GTF y pol II. Esta opinión asume que hay **montaje por pasos** del PIC, promovido por diversas interacciones entre activadores, coactivadores y componentes del PIC (figura 36-11, panel A). Este modelo recibió apoyo por observaciones de que muchas de estas proteínas en realidad pueden unirse entre sí *in vitro*.

Evidencia reciente sugiere que hay otro posible mecanismo de formación de PIC y, de este modo, de la regulación de la transcripción. En primer lugar, se encuentran complejos premontados grandes de GTF y pol II en extractos celulares, y estos complejos pueden relacionarse con el promotor en un paso único; en segundo lugar, el índice de transcripción que se logra cuando se añaden activadores a concentraciones limitantes de holoenzima pol II puede igualarse al incrementar la concentración de esta última en ausencia de activadores. Así, por lo menos *in vitro,* pueden establecerse condiciones en las cuales los activadores no son por sí mismos absolutamente esenciales para la formación de PIC. Estas observaciones condujeron a la **hipótesis del "reclutamiento"**, que ahora se ha probado de manera experimental. Expresado en términos simples, la función de activadores y de algunos coactivadores tal vez solamente sea reclutar un complejo de holoenzima-GTF preformado hacia el promotor. El requerimiento de un dominio de activación se evita cuando un componente del TFIID o la holoenzima pol II se fija de manera artificial, usando técnicas de DNA recombinante, al dominio de unión a DNA (DBD) de un activador. Esta fijación, mediante el compo-

nente DBD de la molécula activadora, da pie a una estructura competente en el aspecto transcripcional, y no hay requerimiento adicional del dominio de activación del activador. En esta perspectiva, la función de los dominios de activación es dirigir complejos de holoenzima-GTF preformados hacia el promotor; no ayudan en el montaje del PIC (figura 36-11, panel B). En este modelo, la eficiencia del proceso de reclutamiento determina de modo directo el índice de transcripción en un promotor dado.

LAS MOLÉCULAS DE RNA POR LO REGULAR SE PROCESAN ANTES DE LLEGAR A SER FUNCIONALES

En organismos procarióticos, los transcritos primarios de genes que codifican para mRNA empiezan a servir como plantillas de traducción incluso antes de que se haya completado su transcripción. Esto puede suceder porque el sitio de transcripción no está compartamentalizado hacia un núcleo como lo está en organismos eucarióticos. De esta manera, la transcripción y traducción están acopladas en células procarióticas. Por tanto, los mRNA procarióticos están sujetos a poco procesamiento antes de llevar a cabo su función prevista en la síntesis de proteína. De hecho, la regulación apropiada de algunos genes (p. ej., el operón *Trp*) depende de este acoplamiento de la transcripción y la traducción. Las moléculas de rRNA y tRNA procarióticas se transcriben en unidades de tamaño considerablemente mayor que la molécula final. En realidad, muchas de las unidades de transcripción de tRNA codifican para más de una molécula de tRNA. De este modo, en procariotas el procesamiento de estas moléculas precursoras de rRNA y tRNA se requiere para la generación de las moléculas funcionales maduras.

Casi todos los transcritos primarios de RNA eucariótico pasan por procesamiento extenso entre el momento en que se sintetizan y el momento en el cual desempeñan su función final, sea como mRNA, miRNA, o como un componente de la maquinaria de traducción, como rRNA, o tRNA. El procesamiento ocurre principalmente dentro del núcleo. Los procesos de **transcripción, procesamiento de RNA, e incluso transporte de RNA desde el núcleo están muy coordinados**. De hecho, se cree que un coactivador transcripcional denominado SAGA en levaduras y P/CAF en células del ser humano, enlaza la activación de la transcripción al procesamiento del RNA al reclutar un segundo complejo llamado TREX para alargamiento, empalme y exportación nuclear de la transcripción. El TREX (exportación de transcripción) representa un probable enlace molecular entre complejos de alargamiento de transcripción, la maquinaria de empalme del RNA, y exportación nuclear (**figura 36-12**). Este acoplamiento probablemente aumenta de manera notoria tanto la fidelidad como el índice de procesamiento y movimiento del mRNA hacia el citoplasma para la traducción.

Las porciones codificadoras (exones) de casi todos los genes eucariontes están interrumpidas por intrones

Las secuencias de RNA que aparecen en RNA maduros se denominan **exones**. En genes que codifican para mRNA, los exones a

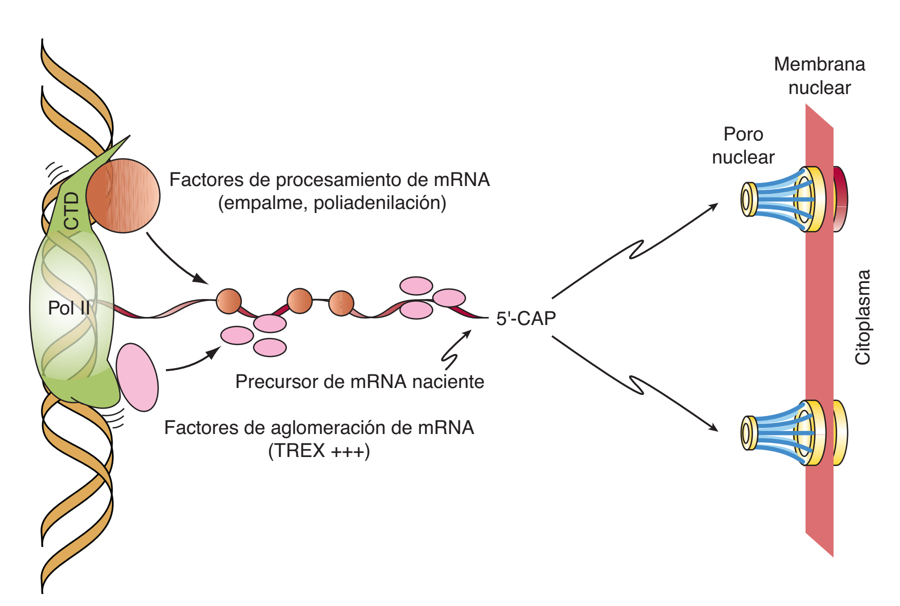


FIGURA 36–12 La transcripción de gen que codifica para mRNA mediada por RNA polimerasa II está acoplada desde el punto de vista cotranscripcional a procesamiento y transporte de RNA. Se muestra la RNA pol II que está transcribiendo de manera activa un gen que codifica para mRNA (alargamiento de arriba abajo en la figura). Los factores de procesamiento de RNA (o sea, factores de empalme que contienen motivos SR/RNP, así como factores de poliadenilación y terminación) interactúan con el dominio C terminal (CTD) de pol II, mientras que los factores de aglomeración de mRNA como el complejo THO/TREX se reclutan hacia la transcripción primaria de mRNA naciente sea mediante interacciones directas con pol II como se muestra, o por medio de interacciones con factores de SR/de empalme residentes en mRNA naciente. Note que el CTD no está dibujado a escala. Este dominio evolutivamente conservado de la subunidad Rpb1 de pol II en realidad es 5 a 10 veces la longitud de la polimerasa debido a sus muchas prolinas y naturaleza desestructurada consiguiente y, así, es un importante sitio de acoplamiento para proteínas procesadoras y de transporte de RNA. En ambos casos, se cree que las cadenas de mRNA nacientes se procesan con mayor rapidez y exactitud debido al reclutamiento rápido de estos muchos factores hacia la cadena de mRNA en crecimiento (precursora). Después del procesamiento apropiado del mRNA, el mRNA maduro pasa por los poros nucleares de la membrana nuclear, donde, en el momento de transporte a través de los poros, los ribosomas pueden unirse a mRNA y traducirlos hacia proteína. (Adaptada de Jensen *et al*. *Molecular Cell* 2005;11:1129–1138.)

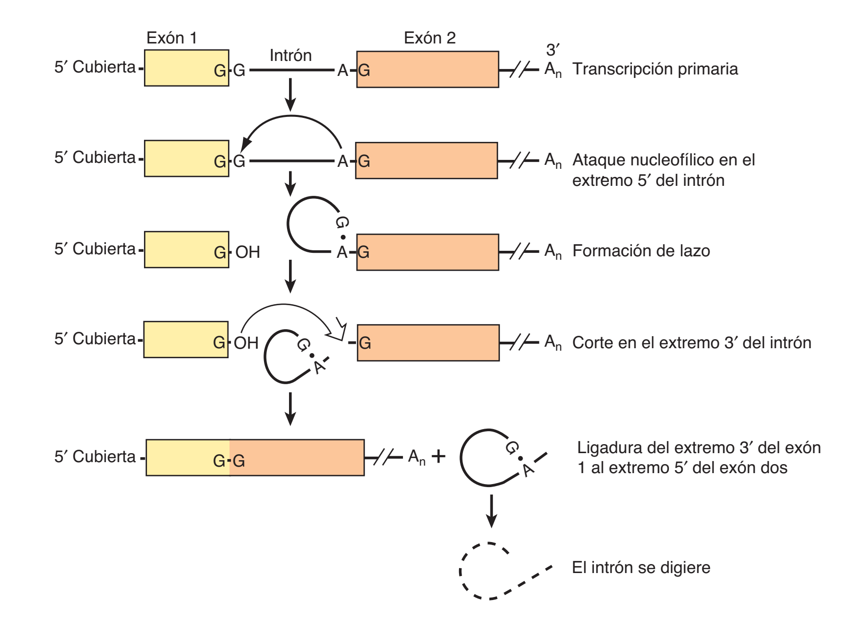


FIGURA 36–13 El procesamiento de la transcripción primaria hacia mRNA. En esta transcripción hipotética, el extremo 5′ (**izquierda**) del intrón se corta (↓), y se forma un lazo entre la G en el extremo 5′ del intrón y una A cerca del extremo 3′, en la secuencia del consenso UACUA**A**C. Esta secuencia se llama el sitio ramificado, y es la **A** más 3′ la que forma el enlace 5′-2′ con la G. El extremo 3′ (**derecha**) del intrón a continuación se corta (⇓). Esto libera el lazo, que es digerido, y el exón 1 es unido al exón 2 en residuos G.

menudo están interrumpidos por secuencias largas de DNA que no aparecen en mRNA maduro ni contribuyen a la información genética finalmente traducida hacia la secuencia de aminoácidos de una molécula de proteína (cap. 35). De hecho, estas secuencias a menudo interrumpen la región codificadora de genes estructurales. Estas **secuencias interpuestas**, o **intrones**, existen dentro de casi todos los genes que codifican para mRNA de eucariotas superiores, pero no en todos. En genes que codifican para mRNA del ser humano, los **exones promedian ~150 nt,** mientras que **los intrones son mucho más heterogéneos; varían desde 10 a 100 nt hasta 30 000 nucleótidos de largo**. Las secuencias de RNA intrón se eliminan de la transcripción, y los exones de la transcripción se empalman de modo apropiado entre sí en el núcleo antes de que la molécula de mRNA resultante aparezca en el citoplasma para la traducción (**figuras 36-13** y **36-14**). Una especulación para esta organización de gen en exón-intrón es que los exones, que suelen codificar para un dominio de actividad, o módulo funcional de una proteína, representan un medio conveniente de revolver información genética, lo que permite a los organismos probar con rapidez los resultados de combinar nuevos dominios funcionales de proteína.

Los intrones se eliminan y los exones se empalman entre sí

Se han descrito diferentes mecanismos de reacción de empalme para eliminación de intrón. A continuación se describe el que se usa con mayor frecuencia en células eucarióticas. Aun cuando las secuencias de nucleótidos en los intrones de las diversas transcripciones eucarióticas —e incluso las que están dentro de una transcripción única— son bastante heterogéneas, hay secuencias razonablemente conservadas en cada una de las dos uniones de exón-intrón (empalme) y en el sitio de ramificación, que está localizado 20 a 40 nucleótidos torrente arriba desde el sitio de empalme 3′ (véase secuencias de consenso en la figura 36-14). Un complejo de múltiples componentes especial, el **empalmosoma**, participa en la conversión del transcrito primario hacia mRNA. Los empalmosomas constan del transcrito primario, cinco snRNA (U1, U2, U4, U5 y U6) y más de 60 proteínas, muchas de las cuales contienen proteínas "RNP" conservadas y "SR" modificadas. En conjunto, las cinco proteínas que contienen snRNA y RNP/SR forman una **pequeña ribonucleoproteína nuclear denominada complejo snRNA**. Es probable que este empalmosoma penta-snRNP se forme antes de la interacción con precursores de mRNA. Se cree que los snRNP colocan los segmentos de exón e intrón de RNA para las reacciones de empalme necesarias. La reacción de empalme empieza con un corte en la unión del exón 5′ (donador o izquierdo) y el intrón (figura 36-13). Esto se logra por medio de ataque nucleofílico por un residuo adenililo en la secuencia de punto de ramificación localizada justo torrente arriba desde el extremo 3′ de este intrón. La terminal 5′ libre forma entonces una estructura en asa o lazo que es unida por un enlace fosfodiéster 5′-2′ poco común a la A reactiva en la secuencia de sitio de ramificación PyNPyPyPuAPy (figura 36-14). Este residuo adenililo típicamente está localizado 20 a 30 nucleótidos torrente arriba desde el extremo 3′ desde el intrón que se está eliminando. El sitio de ramificación identifica el sitio de empalme 3′. Se hace un segundo corte en la unión del intrón con el exón 3′ (donador a la

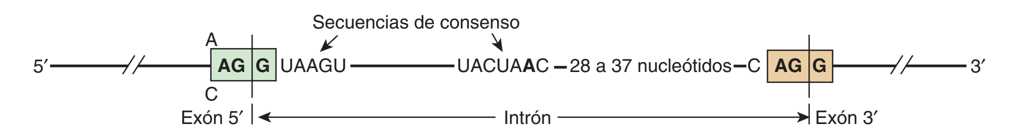


FIGURA 36–14 Secuencias de consenso en uniones de empalme. Se muestran las secuencias 5′ (donadora; **izquierda**) y 3′ (aceptora; **derecha**). También se muestran las secuencias de consenso de levadura (UACUA**A**C) para el sitio ramificado. En células de mamífero, esta secuencia de consenso es PyNPyPyPuAPy, donde Py es una pirimidina, Pu es una purina, y N es cualquier nucleótido. El sitio de ramificación está ubicado 20 a 40 nucleótidos torrente arriba desde el sitio de empalme 3′.

derecha). En esta segunda reacción de transesterificación, el hidroxilo 3′ del exón torrente arriba ataca al fosfato 5′ en el límite entre exón e intrón torrente abajo, y la estructura en lazo que contiene el intrón se libera y se hidroliza. Los exones 5′ y 3′ se ligan para formar una secuencia continua.

Los snRNA y las proteínas asociadas se necesitan para la formación de las diversas estructuras e intermediarios. U1 dentro del complejo snRNP se une primero mediante formación de par de bases al límite entre exón e intrón 5′. A continuación, U2 dentro del complejo snRNP se une por medio de formación de par de bases al sitio de ramificación, y esto expone el residuo A nucleofílico. U4/U5/U6 dentro del complejo snRNP media un desenrollamiento mediado por proteína, dependiente de ATP, que suscita alteración del complejo U4-U6 formado con par de base, con la liberación de U4. A continuación U6 puede interactuar primero con U2, y después con U1. Estas interacciones sirven para aproximar el sitio de empalme 5′, el punto de ramificación con su A reactiva, y el sitio de empalme 3′. U5 incrementa esta alineación; este proceso también produce la formación de la estructura en asa o lazo. Los dos extremos se dividen, probablemente por medio del U2-U6 dentro del complejo snRNP. U6 sin duda es esencial, dado que las levaduras con deficiencia de este snRNA no son viables. Tiene importancia notar que el RNA sirve como agente catalítico. Esta secuencia de eventos a continuación se repite en genes que contienen múltiples intrones. En esos casos, se sigue un modelo definido para cada gen, aunque los intrones no necesariamente se eliminan en secuencia —1, después 2, después 3, etcétera.

El empalme alternativo proporciona mRNA diferentes

El procesamiento de moléculas de mRNA es un sitio para la regulación de la expresión de gen. Patrones alternativos de empalme de mRNA se producen por mecanismos de control adaptativos y vinculados con el desarrollo específicos para cada tejido. Despierta interés que estudios recientes sugieren que el empalme alternativo está controlado, al menos en parte, por marcas epigenéticas en la cromatina (cuadro 35-1). Esta forma de acoplamiento de la transcripción y el procesamiento del mRNA puede ser cinética y/o estar mediada por interacciones entre PTM de histonas específicas y factores de empalme alternativos que pueden cargarse hacia transcritos de gen que codifica para mRNA nacientes durante el proceso de transcripción (figura 36-12).

Como se mencionó, la secuencia de eventos de empalme de exón-intrón por lo general sigue un orden jerárquico para un gen dado. El hecho de que durante el empalme se forman estructuras de RNA muy complejas —y de que varios snRNA y proteínas están involucrados— proporciona muchas posibilidades para un cambio de este orden y para la generación de diferentes mRNA. De manera similar, el uso de sitios de poliadenilación de división de terminación alternativos también ocasiona variabilidad del mRNA. En la **figura 36-15** se muestran algunos ejemplos esquemáticos de estos procesos, todos los cuales suceden en la Naturaleza.

El empalme fallido puede traducirse en enfermedad. Al menos una forma de β-talasemia, una enfermedad en la cual el gen que codifica para la globina β de la hemoglobina está gravemente expresado de modo insuficiente, parece ser el resultado de un cambio de nucleótido en una unión de exón e intrón, lo que

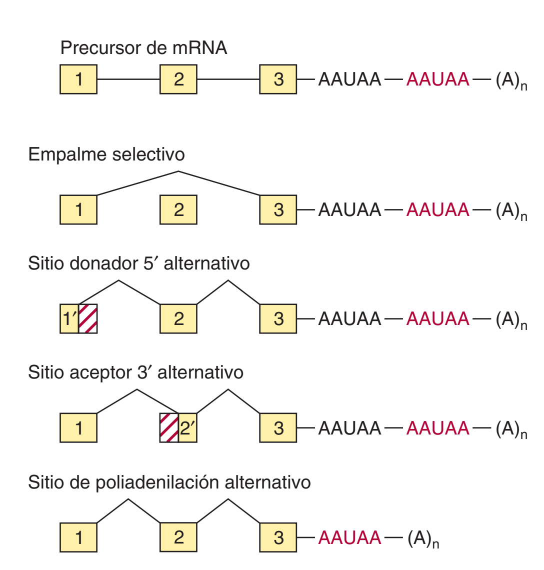


FIGURA 36–15 Mecanismos de procesamiento alternativo de precursores de mRNA. Esta forma de procesamiento de RNA involucra la inclusión o exclusión selectiva de exones, la utilización de sitios 5′ donador o 3′ aceptor alternativos, y el uso de sitios de poliadenilación diferentes.

impide la eliminación del intrón y, en consecuencia, lleva a síntesis reducida de la proteína de la cadena β, o a falta de la misma. Ésta es una consecuencia del hecho de que el marco de lectura de traducción normal del mRNA, se altera por un defecto del proceso fundamental de empalme del RNA, lo que subraya la exactitud que debe mantener el proceso de empalme RNA-RNA.

La utilización de promotor alternativo proporciona una forma de regulación

El empalme alternativo puede proporcionar regulación específica para tejido de la expresión de gen, como se mencionó, por medio de elementos de control en el promotor o mediante el uso de promotores alternativos. El gen que codifica para la glucocinasa (*GK*) consta de 10 exones interrumpidos por nueve intrones. La secuencia de exones 2 a 10 es idéntica en células del hígado, y β pancreáticas, los tejidos primarios en los cuales se expresa la proteína *GK*. La expresión del gen *GK* está regulada de manera muy diferente —por dos promotores distintos— en estos dos tejidos. El promotor hepático y el exón 1L están localizados cerca de los exones 2 a 10; el exón 1L está ligado de modo directo al exón 2. En contraste, el promotor de células β pancreáticas está localizado unos 30 kbp torrente arriba. En este caso, el límite 3′ del exón 1B está ligado al límite 5′ del exón 2. El promotor hepático y el exón 1L se excluyen y eliminan durante la reacción de empalme (**figura 36-16**). La existencia de múltiples promotores distintos permite que haya modelos de expresión específicos para célula y para tejido de un gen particular (mRNA). En el caso de la *GK,* la insulina y el cAMP (capítulo 42) controlan la transcripción de *GK* en el hígado, mientras que la glucosa controla la expresión de *GK* en células β.

Tanto los RNA ribosómicos como casi todos los RNA de transferencia se procesan a partir de precursores de mayor tamaño

En células de mamífero, las tres moléculas de rRNA (28S, 18S, 5.8S) se transcriben como parte de una molécula precursora 45S

FIGURA 36–16 Uso de promotor alternativo en genes que codifican para glucocinasa (*GK*) en células del hígado, y β pancreáticas. La regulación diferencial del gen que codifica para glucocinasa se logra mediante el uso de promotores específicos para tejido. El promotor de gen *GK* de células β y el exón 1B están localizados a aproximadamente 30 kbp torrente arriba desde el promotor y el exón 1L hepáticos. Cada promotor tiene una estructura singular, y está regulado de modo diferente. Los exones 2 a 10 son idénticos en los dos genes, y las proteínas GK codificadas por los mRNA de células del hígado y β tienen propiedades cinéticas iguales.

grande única. **El precursor luego se procesa en el nucléolo** para proporcionar estos tres componentes del RNA para las subunidades de ribosoma que se encuentran en el citoplasma. Los genes que codifican para rRNA están localizados en los nucléolos de células de mamífero. En cada célula hay cientos de copias de estos genes. Este número grande de genes se necesita para sintetizar suficientes copias de cada tipo de rRNA, para formar los 10^7 ribosomas requeridos para cada replicación celular. Mientras que una molécula de mRNA única puede copiarse hacia 10^5 moléculas de proteína, lo que proporciona una amplificación grande, los rRNA son productos terminales. Esta falta de amplificación requiere tanto un número grande de genes como un índice de transcripción alto, típicamente sincronizado con el índice de crecimiento celular. De manera similar, los RNA de transferencia (tRNA) a menudo se sintetizan como precursores, con secuencias extra tanto 5′ como 3′ de las secuencias que comprende el tRNA maduro. Una pequeña fracción de tRNA contiene intrones.

LOS RNA SE PUEDEN MODIFICAR DE MODO EXTENSO

En esencia todos los RNA se modifican de manera covalente después de la transcripción; está claro que por lo menos algunas de estas modificaciones son reguladoras.

El RNA mensajero (mRNA) se modifica en los extremos 5′ y 3′

Como se mencionó, las moléculas de mRNA de mamífero contienen una estructura de 7-metilguanosina que hace las veces de cubierta en su 5′ terminal (figura 34-10), y casi todos tienen una cola poli(A) en la 3′ terminal. La estructura de cubierta se añade al extremo 5′ del precursor de mRNA recién transcrito en el núcleo antes de transporte de la molécula de mRNA hacia el citoplasma. La **cubierta 5′** de la transcripción del RNA se requiere tanto para el inicio eficiente de la traducción como para la protección del extremo 5′ del mRNA contra ataque por exonucleasas 5′ → 3′. Las metilaciones secundarias de moléculas de mRNA, las que están en el 2′-hidroxi y el N^7 de residuos adenililo, ocurren luego de que la molécula de mRNA ha aparecido en el citoplasma.

Las colas poli(A) se añaden al extremo 3′ de las moléculas de mRNA en un paso de procesamiento postranscripcional. El mRNA se divide primero alrededor de 20 nucleótidos torrente abajo desde una secuencia de reconocimiento AAUAA. Otra enzima, la **poli(A) polimerasa**, añade una cola poli(A) que después se extiende hasta 200 residuos A. La **cola poli(A)** parece proteger el extremo 3′ del mRNA contra ataque por la exonucleasa 3′ → 5′ y facilitar la traducción. La presencia o ausencia de la cola poli(A) no determina si una molécula precursora en el núcleo aparece en el citoplasma, pues ninguna molécula de mRNA nuclear con cola poli(A) contribuye al mRNA citoplásmico, ni todas las moléculas de mRNA citoplásmicas contienen colas poli(A) (los mRNA histona son más notables a este respecto). Luego de transporte nuclear, las enzimas citoplásmicas en células de mamífero pueden tanto añadir como eliminar residuos adenililo de las colas poli(A); este proceso se ha vinculado con una alteración de la estabilidad y la traducibilidad del mRNA.

El tamaño de algunas moléculas de mRNA citoplásmicas, incluso después de que se elimina la cola poli(A), aún es considerablemente mayor que el tamaño requerido para codificar para la proteína específica para la cual es un templado (plantilla), a menudo por un factor de 2 o 3. **Los nucleótidos extra surgen en regiones no traducidas** (**no codificadoras para proteína**) tanto 5′ como 3′ de la región codificadora; las secuencias no traducidas más largas generalmente están en el extremo 3′. Se desconoce la función precisa de las secuencias **5′UTR y 3′UTR**, pero han quedado implicadas en el procesamiento, el transporte, el almacenamiento, la degradación y la traducción de RNA; cada una de estas reacciones contribuye en potencia con niveles adicionales de control de la expresión del gen. **Los micro-RNA típicamente se dirigen a secuencias dentro del 3′UTR.** Muchos de estos eventos postranscripcionales que incluyen mRNA ocurren en los organelos citoplásmicos llamados cuerpos P (cap. 37).

Los micro-RNA se derivan de transcripciones primarias grandes mediante procesamiento nucleolítico específico

Casi todos los miRNA se transcriben por medio de RNA pol II hacia **transcripciones primarias** llamadas **pri-miRNA**. Las pri-miRNA tienen cubierta 5′ y poliadenilación 3′ (**figura 36-17**). Las pri-miRNA se sintetizan a partir de unidades de transcripción que codifican para uno o varios miRNA distintos; estas unidades de transcripción están localizadas de modo independiente en el genoma o dentro del DNA intrónico de otros genes.

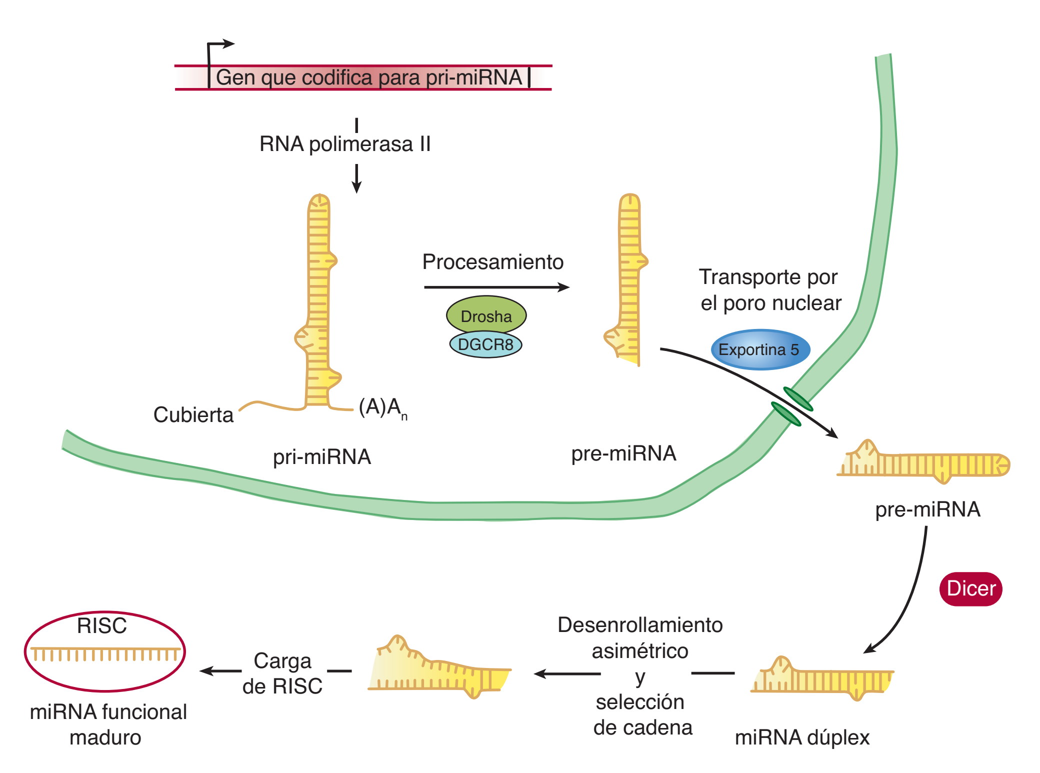


FIGURA 36–17 Biogénesis de miRNA. Los genes codificadores de miRNA se transcriben por medio de la RNA pol II hacia una transcripción de miRNA primaria (pri-miRNA) que tiene una cubierta 5′ y está poliadenilada, como es típico de las transcripciones primarias que codifican para mRNA. Este pri-miRNA está sujeto a procesamiento dentro del núcleo por la acción de la nucleasa Drosha-DGCR8, que recorta secuencias de los extremos 5′ y 3′, lo que genera el pre-miRNA. La exportina-5 transporta a través del poro nuclear este RNA bicatenario parcialmente procesado. A continuación, la acción de la nucleasa de múltiples subunidades denominada Dicer recorta más el pre-miRNA citoplásmico, para formar el miRNA dúplex. Una de las dos cadenas de RNA de 21 a 22 nucleótidos de largo resultantes se selecciona, el dúplex se desenrolla, y la cadena seleccionada se carga hacia el complejo RISC, lo que genera el miRNA maduro, funcional.

Por ende, los genes que codifican para miRNA deben poseer como mínimo un promotor separado, región codificadora y señales de poliadenilación/terminación. Las pri-miRNA tienen estructura 2° extensa, y esta estructura intramolecular se mantiene luego del procesamiento por la **nucleasa Drosha-DGCR8**; la porción que contiene la horquilla de RNA se preserva, se transporta a través del poro nuclear y una vez en el citoplasma, se procesa más hacia **21 o 22-mer** por la **nucleasa dicer**. Finalmente, una de las dos cadenas se selecciona para carga hacia el **complejo silenciador inducido por RNA** (**RISC**) para formar un miRNA funcional maduro. Los siRNA se producen de manera similar. Una vez en el complejo RISC, los miRNA pueden modular la función del mRNA (cap. 39). Datos recientes sugieren que los genes que codifican para miRNA reguladores pueden estar enlazados y, por ende, coevolucionar con sus genes blanco.

La edición del RNA cambia el mRNA después de la transcripción

El dogma fundamental afirma que para un gen y producto de gen dados hay una relación lineal entre la secuencia codificadora en el DNA, la secuencia en el mRNA, y la secuencia de la proteína (figura 35-7). Los cambios en la secuencia del DNA se deben reflejar en un cambio en la secuencia del mRNA y, dependiendo del uso de codón, en la secuencia de proteína. Como quiera que sea, a últimas fechas se han documentado excepciones de esta regla. La información codificadora puede cambiarse en el ámbito del mRNA mediante **edición del RNA**. En esos casos, la secuencia codificadora del mRNA difiere de la que hay en el DNA bicatenario. Un ejemplo es el gen y mRNA que codifican para la apolipoproteína B (*apoB*). En el hígado, el gen *apoB* único se transcribe hacia un mRNA que dirige la síntesis de una proteína de 100 kDa, la apoB100. En el intestino, el mismo gen dirige la síntesis de la transcripción primaria; de cualquier modo, una citidina desaminasa convierte un codón CAA en el mRNA hacia UAA en un sitio específico único. En lugar de codificar para glutamina, este codón se convierte en una señal de terminación, y el resultado es una proteína de 48 kDa (apoB48). La apoB100 y la apoB48 tienen funciones diferentes en los dos órganos. Un número creciente de otros ejemplos comprende un cambio de glutamina a arginina en el receptor de glutamato, y varios cambios en mRNA mitocondriales de tripanosoma, que por lo general incluyen la adición o deleción de uridina. Se desconoce la extensión precisa de la edición del RNA, pero estimados actuales sugieren que $<0.01\%$ de los mRNA se edita de esta manera. Recientemente, se ha descrito edición de miRNA, lo que sugiere que estas dos formas para mecanismos de control postranscripcionales podrían contribuir de modo cooperativo a la regulación de gen.

El RNA de transferencia se procesa y modifica de manera extensa

Las moléculas de tRNA sirven como moléculas adaptadoras para la traducción del mRNA hacia secuencias proteínicas (caps. 34 y 37). Los tRNA contienen muchas modificaciones de las bases estándar A, U, G y C, entre ellas metilación, reducción, desa-

minación y enlaces glucosídicos reordenados. La modificación postranscripcional adicional para las moléculas de tRNA comprende las alquilaciones de nucleótido y la fijación de la terminal $CpCpA_{OH}$ característica en el extremo 3′ de la molécula por la enzima nucleotidil transferasa. El OH 3′ en la ribosa A es el punto de fijación para el aminoácido específico que va a entrar a la reacción de polimerización de la síntesis de proteína. La metilación de precursores de tRNA de mamífero probablemente sucede en el núcleo, mientras que la división y fijación de $CpCpA_{OH}$ son funciones citoplásmicas, puesto que las terminales se recambian con mayor rapidez que las moléculas de tRNA mismas. Las enzimas dentro del citoplasma de células de mamífero se necesitan para la fijación de aminoácidos a los residuos $CpCpA_{OH}$ (cap. 37).

EL RNA PUEDE ACTUAR COMO UN CATALÍTICO

Además de la acción catalítica proporcionada por los snRNA en la formación de mRNA, se han atribuido varias otras funciones enzimáticas al RNA. Las **ribozimas** son moléculas de RNA con actividad catalítica. Éstas regularmente incluyen reacciones de transesterificación, y casi todas muestran vínculo con el metabolismo de RNA (empalme y endorribonucleasa). A últimas fechas, se notó que un componente del RNA ribosómico hidroliza un aminoacil éster y, así, desempeña un papel central en la función de enlace peptídico (peptidil transferasas; cap. 37). Estas observaciones, hechas usando moléculas de RNA derivadas de los organelos de vegetales, levaduras, virus y otras células eucarióticas superiores, muestran que el RNA puede actuar como una enzima, y han revolucionado el pensamiento respecto a la acción enzimática y el origen de la vida misma.

RESUMEN

- El RNA se sintetiza a partir de una plantilla de DNA por medio de la enzima RNA polimerasa.
- En tanto que las bacterias contienen sólo una polimerasa RNA ($\beta,\beta'\alpha_2$), hay tres RNA polimerasas dependientes de DNA nucleares distintas en mamíferos: RNA polimerasas I, II y III. Estas enzimas catalizan la transcripción de genes que codifican para rRNA (Pol I), mRNA/miRNA (Pol II) y tRNA y rRNA 5S (Pol III).
- Las RNA polimerasas interactúan con regiones *cis*-activas singulares de genes, denominadas promotores, para formar complejos de preinicio (PIC) que tienen la capacidad de inicio. En eucariotas el proceso de la formación de PIC pol II requiere, además de polimerasa, múltiples factores de transcripción generales (GTF), TFIIA, B, D, E, F y H.
- La formación de PIC eucariótico puede ocurrir sobre promotores accesibles por pasos —mediante las interacciones ordenadas secuenciales de GTF y RNA polimerasa con promotores de DNA— o en un paso por medio del reconocimiento del promotor por un complejo de GTF-holoenzima RNA polimerasa preformado.
- La transcripción muestra tres fases: inicio, alargamiento y terminación. Todas dependen de elementos *cis* de DNA separados, y están moduladas por factores proteínicos de acción *trans* separados.
- La presencia de nucleosomas puede ocluir la unión tanto de cofactores como de la maquinaria de transcripción a sus elementos *cis* de DNA cognados, lo que inhibe la transcripción.
- Casi todos los RNA eucarióticos se sintetizan como precursores que contienen secuencias excesivas que se eliminan antes de la generación de RNA maduro, funcional. Estas reacciones de procesamiento proporcionan pasos potenciales adicionales para la regulación de la expresión de genes.
- La síntesis de mRNA eucarióticos origina un precursor pre-mRNA que contiene mucho RNA excesivo (intrones) que se debe eliminar con precisión mediante empalme de RNA para generar mRNA traducible, funcional, compuesto de secuencias codificadoras exónicas, y 5′ y 3′ no codificadoras.
- Todos los pasos, desde cambios en la plantilla, secuencia y accesibilidad de DNA en la cromatina, hasta estabilidad y traducibilidad de RNA, están sujetos a modulación y, por consiguiente, son los sitios de control potenciales para la regulación de gen eucariótico.

REFERENCIAS

Bourbon H-M, Aguilera A, Ansari AZ, et al: A unified nomenclature for protein subunits of mediator complexes linking transcriptional regulators to RNA polymerase II. Mol Cell 2004;14:553.

Busby S, Ebright RH: Promoter structure, promoter recognition, and transcription activation in prokaryotes. Cell 1994;79:743.

Cramer P, Bushnell DA, Kornberg RD: Structural basis of transcription: RNA polymerase II at 2.8 angstrom resolution. Science 2001;292:1863.

Fedor MJ: Ribozymes. Curr Biol 1998;8:R441.

Gott JM, Emeson RB: Functions and mechanisms of RNA editing. Ann Rev Genet 2000;34:499.

Harel-Sharvit L, Eldad N, Haimovich G, et al: RNA polymerase II subunits link transcription and mRNA decay to translation. Cell 2010;143:552–563.

Kawauchi J, Mischo H, Braglia P, et al: Budding yeast RNA polymerases I and II employ parallel mechanisms of transcriptional termination. Genes Dev 2008;22:1082.

Keaveney M, Struhl K: Activator-mediated recruitment of the RNA polymerase machinery is the predominant mechanism for transcriptional activation in yeast. Mol Cell 1998;1:917.

Maniatis T, Reed R: An extensive network of coupling among gene expression machines. Nature 2002;416:499.

Mapendano CK, Lykke-Andersen S, Kjems J, et al: Crosstalk between mRNA 3′ end processing and transcription initiation Mol Cell 2010;40:410–422.

Nechaev S, Adelman K: Pol II waiting in the starting gates: regulating the transition from transcription initiation into productive elongation. Biochim Biophys Acta 2011;1809:34–45.

Orphanides G, Reinberg D: A unified theory of gene expression. Cell 2002;108:439.

Price DH: Poised polymerases: on your mark ... get set ... go!. Mol Cell 2008;30:7.

Reed R, Cheng H: TREX, SR proteins and export of mRNA. Curr Opin Cell Biol 2005;17:269.

Trcek T, Singer RH: The cytoplasmic fate of an mRNP is determined cotranscriptionally: exception or rule? Genes Dev 2010; 24:1827–1831.

Tucker M, Parker R: Mechanisms and control of mRNA decapping in *Saccharomyces cerevisiae.* Ann Rev Biochem 2000;69:571.

West S, Proudfoot NJ, Dye MJ, et al: Molecular dissection of mammalian RNA polymerase II transcriptional termination. Mol Cell 2008;29:600.

C A P Í T U L O

37

Síntesis de proteína y el código genético

P. Anthony Weil, PhD

O B J E T I V O S

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Entender que el código genético es un código de nucleótidos, de tres letras, que está codificado en la disposición lineal del DNA de exón (compuesto de tripletes de A, G, C y T) de genes que codifican para proteína, y que este código de tres letras es traducido hacia mRNA (compuesto de tripletes de A, G, C y U) para especificar el orden lineal de la adición de aminoácidos durante la síntesis de proteína por medio del proceso de traducción.
- Apreciar que el código genético universal es degenerado, no ambiguo, sin superposición y sin puntuación.
- Explicar que el código genético está compuesto de 64 codones, 61 de los cuales codifican para aminoácidos, mientras que tres inducen la terminación de la síntesis de proteína.
- Explicar cómo los RNA de transferencia (tRNA) sirven como los agentes informativos finales que descodifican el código genético de mRNA.
- Entender el mecanismo del proceso intensivo en cuanto a energía de síntesis de proteína que ocurre en complejos de RNA-proteína llamados ribosomas.
- Apreciar que la síntesis de proteína, al igual que la replicación de DNA y la transcripción del mismo, está controlada por medio de la acción de múltiples factores accesorios que tienen capacidad de respuesta a múltiples señales reguladoras extracelulares e intracelulares.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las letras A, G, T y C corresponden a los nucleótidos que se encuentran en el DNA. Dentro de los genes que codifican para proteína, estos nucleótidos están organizados en palabras de código de tres letras llamadas **codones**, y el conjunto de estos codones constituye el **código genético**. Antes de que se elucidara el código genético, era imposible entender la síntesis de proteína, o explicar las mutaciones. El código proporciona un fundamento para explicar la manera en la cual los defectos de proteína pueden causar enfermedad genética, y para el diagnóstico y quizá el tratamiento de estos trastornos. Además, la fisiopatología de muchas infecciones virales se relaciona con la capacidad de estos agentes infecciosos para alterar la síntesis de proteína de la célula huésped. Muchos antibacterianos son eficaces porque alteran de manera selectiva la síntesis de proteína en la célula bacteriana invasora, pero no afectan dicha síntesis en las células eucarióticas.

LA INFORMACIÓN GENÉTICA FLUYE DESDE EL DNA HACIA EL RNA, Y HACIA PROTEÍNA

La información genética dentro de la secuencia de nucleótido del DNA se transcribe en el núcleo hacia la secuencia de nucleótido específica de una molécula de RNA. La secuencia de nucleótidos en la transcripción de RNA es complementaria a la secuencia de nucleótido de la cadena plantilla de este gen de acuerdo con las reglas de la formación de pares de bases. Varias clases de RNA se combinan para dirigir la síntesis de proteínas.

En procariotas hay una correspondencia lineal entre el gen, el **RNA mensajero** (**mRNA**) transcrito a partir del gen, y el producto polipeptídico. La situación es más complicada en células eucarióticas superiores, en las cuales la transcripción primaria es de mucho mayor tamaño que el mRNA maduro. Los precursores de mRNA grandes contienen regiones codificadoras (**exones**) que formarán el mRNA maduro, y secuencias interpuestas largas (**intrones**) que separan a los exones. El mRNA se procesa

dentro del núcleo, y los intrones, que a menudo constituyen mucho más de este RNA que los exones, se eliminan. Los exones se empalman entre sí para formar el mRNA maduro, que se transporta hacia el citoplasma, donde se traduce hacia proteína.

La célula debe poseer la maquinaria necesaria para traducir con exactitud y eficacia la información desde la secuencia de nucleótidos de un mRNA hacia la secuencia de aminoácidos de la proteína específica correspondiente. Para lograr el entendimiento de este proceso, que se llama **traducción**, hubo que esperar a que se descifrara el código genético. Desde el principio quedó de manifiesto que las moléculas de mRNA mismas carecen de afinidad por aminoácidos y, por ende, que la traducción de la información en la secuencia de nucleótido del mRNA hacia la secuencia de aminoácidos de la proteína requiere una molécula adaptadora intermedia, que debe reconocer una secuencia de nucleótido específica por un lado, así como un aminoácido específico por el otro. Con esa molécula adaptadora, la célula puede dirigir a un aminoácido específico hacia la posición secuencial apropiada de una proteína durante su síntesis, según lo dicta la secuencia de nucleótido del mRNA específico. De hecho, los grupos funcionales de los aminoácidos no entran en contacto real por sí mismos con la plantilla de mRNA.

CUADRO 37–1 El código genético[1] (asignaciones de codón en RNA mensajeros de mamífero)

Primer nucleótido	Segundo nucleótido				Tercer nucleótido
	U	C	A	G	
U	Fen	Ser	Tir	Cis	U
	Fen	Ser	Tir	Cis	C
	Leu	Ser	Term	Term[2]	A
	Leu	Ser	Term	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Tre	Asn	Ser	U
	Ile	Tre	Asn	Ser	C
	Ile[2]	Tre	Lis	Arg[2]	A
	Met	Tre	Lis	Arg[2]	G
G	Val	Ala	Asp	Gli	U
	Val	Ala	Asp	Gli	C
	Val	Ala	Glu	Gli	A
	Val	Ala	Glu	Gli	G

[1] Los términos primer, segundo y tercer nucleótido se refieren a los nucleótidos individuales de un codón triplete, lectora 5′ a 3′, de izquierda a derecha. U, nucleótido uridina; C, nucleótido citosina; A, nucleótido adenina; G, nucleótido guanina; Term, codón terminador de cadena. AUG, que codifica para Met, sirve como el codón iniciador en células de mamífero, y codifica también para metioninas internas en una proteína. (Las abreviaturas de los aminoácidos se explican en el cap. 3.)

[2] En mitocondrias de mamífero, AUA codifica para Met, y UGA para Trp, y AGA y AGG sirven como terminadores de cadena.

LA SECUENCIA DE NUCLEÓTIDO DE UNA MOLÉCULA DE mRNA CONTIENE UNA SERIE DE CODONES QUE ESPECIFICAN LA SECUENCIA DE AMINOÁCIDOS DE LA PROTEÍNA CODIFICADA

Se requieren 20 aminoácidos diferentes para la síntesis de la totalidad de las proteínas celulares; de este modo, debe haber al menos 20 codones distintos que constituyen el código genético. Dado que sólo hay cuatro nucleótidos diferentes en el mRNA, cada codón debe constar de más de un nucleótido purina o pirimidina único. Los codones que constan de dos nucleótidos cada uno sólo podrían proporcionar 16 (4^2) codones específicos, mientras que los de tres nucleótidos podrían aportar 64 (4^3) codones específicos.

Ahora se sabe que cada codón consta de una secuencia de tres nucleótidos; esto es, **es un código triplete** (**cuadro 37-1**). El descifrado inicial del **código genético** dependió mucho de la síntesis *in vitro* de polímeros de nucleótido, en particular tripletes en secuencia repetida. Estos ribonucleótidos tripletes sintéticos se usaron como mRNA para programar las síntesis de proteína en el tubo de ensayo, lo que permitió a los investigadores deducir el código genético.

EL CÓDIGO GENÉTICO ES DEGENERADO, NO AMBIGUO, SIN SUPERPOSICIÓN O SIN PUNTUACIÓN Y UNIVERSAL

Tres de los 64 codones posibles no codifican para aminoácidos específicos; éstos han sido denominados **codones sin sentido**, y se utilizan en la célula como **señales de terminación**; especifican dónde va a detenerse la polimerización de aminoácidos hacia una molécula de proteína. **Los 61 codones restantes codifican para los 20 aminoácidos ya existentes** (cuadro 37-1). De este modo, hay **"degeneración"** en el código genético; esto es, múltiples codones decodifican el mismo aminoácido. Algunos aminoácidos son codificados en varios codones; por ejemplo, seis codones diferentes, UCU, UCC, UCA, UCG, AGU y AGC especifican serina. Otros aminoácidos, como la metionina y el triptófano, tienen un solo codón. El tercer nucleótido en un codón tiene menos importancia que los dos primeros en la determinación del aminoácido específico que se va a incorporar, y esto explica la mayor parte de la degeneración del código. Sin embargo, para cualquier codón específico, sólo está indicado un aminoácido único; con raras excepciones, el código genético es **no ambiguo**; esto es, dado un codón específico, sólo un aminoácido único está indicado. **La distinción entre ambigüedad y degeneración es un concepto importante**.

El código no ambiguo pero degenerado puede explicarse en términos moleculares. El reconocimiento de codones específicos en el mRNA por las moléculas adaptadoras tRNA depende de su **región anticodón** y de reglas de formación de pares de bases específicas. Cada molécula de tRNA contiene una secuencia específica, complementaria a un codón, que se denomina su anticodón. Para un codón dado en el mRNA, sólo una especie única de molécula de tRNA posee el anticodón apropiado. Dado que cada molécula de tRNA puede cargarse con sólo un amino-

ácido específico, cada codón, por ende, sólo especifica un aminoácido. Sin embargo, algunas moléculas de tRNA pueden utilizar el anticodón para reconocer más de un codón. **Con pocas excepciones, dado un codón específico, sólo un aminoácido específico se incorporará, aunque, dado un aminoácido específico, puede usarse más de un codón.**

La lectura del código genético durante el proceso de síntesis de proteína no comprende superposición de codones (véase más adelante). **De este modo, el código genético no tiene superposición**. Además, una vez que la lectura comienza en un codón específico, **no hay puntuación** entre los codones, y el mensaje se lee en una secuencia continua de tripletes de nucleótido hasta que se llega a un codón de parada (también denominado de terminación o finalizador) de la traducción.

Hasta hace poco, se creía que el código genético era universal. Ahora se ha mostrado que el juego de moléculas de tRNA en las mitocondrias (que contienen su propio juego, separado y distinto de maquinaria de traducción) de eucariotas inferiores y superiores, incluso seres humanos, lee cuatro codones de manera diferente a partir de las moléculas de tRNA en el citoplasma de incluso las mismas células. En mitocondrias de mamífero, el codón AUA se lee como Met, y UGA codifica para Trp (cuadro 37-1). Además, en las mitocondrias, los codones AGA y AGG se leen como codones de parada o terminadores de cadena, más que como Arg. Como resultado de estos cambios específicos para organelo en el código genético, las mitocondrias sólo requieren 22 moléculas de tRNA para leer su código genético, mientras que el sistema de traducción citoplásmico posee 31 especies de tRNA en total. Una vez notadas estas excepciones, **el código genético es universal**. La frecuencia de uso de cada codón de aminoácido varía considerablemente entre las especies y entre diferentes tejidos dentro de una especie. Las concentraciones de tRNA específico por lo general reflejan estos sesgos de uso de codón. De este modo, un codón particular que se usa de manera abundante se decodifica por medio de un tRNA específico con abundancia semejante que reconoce ese codón particular. Los cuadros de **uso de codón** se están haciendo más exactos a medida que se efectúa secuenciación de más genes y genomas; esa información puede resultar vital para la producción a gran escala de proteínas para propósitos terapéuticos (esto es, insulina, eritropoyetina). Esas proteínas a menudo se producen en células no humanas usando tecnología de DNA recombinante (cap. 39). En el **cuadro 37-2** se listan las principales características del código genético.

CUADRO 37–2 Características del código genético

• Degenerado
• No ambiguo
• Sin superposición
• Sin puntuación
• Universal

AL MENOS UNA ESPECIE DE RNA DE TRANSFERENCIA (tRNA) EXISTE PARA CADA UNO DE LOS 20 AMINOÁCIDOS

Las moléculas de tRNA tienen funciones y estructuras tridimensionales extraordinariamente similares. La función adaptadora de las moléculas de tRNA requiere la carga de cada tRNA específico con su aminoácido específico. Dado que no hay afinidad de ácidos nucleicos por grupos funcionales específicos de aminoácidos, este reconocimiento debe llevarse a cabo mediante una molécula de proteína capaz de reconocer tanto una molécula de tRNA específico como un aminoácido específico. Se requieren al menos 20 enzimas específicas para estas funciones de reconocimiento, y para la fijación apropiada de los 20 aminoácidos a moléculas de tRNA específicas. El proceso de **reconocimiento y fijación** (**carga**) que requiere energía procede en dos pasos, y es catalizado por una enzima para cada uno de los 20 aminoácidos; estas enzimas se llaman **aminoacil-tRNA sintetasas**. Forman un complejo intermedio activado de aminoacil-AMP-enzima (**figura 37-1**). El complejo de aminoacil-AMP-enzima específico a continuación reconoce un tRNA específico al cual fija la porción aminoacilo en la terminal 3′-hidroxilo adenosilo. Las reacciones de carga tienen un índice de error de menos de 10^{-4} y, así, son bastante exactas. El aminoácido permanece fijo a su tRNA específico en un enlace éster en tanto no se polimeriza en una posición específica en la fabricación de un precursor polipeptídico de una molécula de proteína.

Las regiones de la molécula de tRNA a las que se hace referencia en el capítulo 34 (y que se ilustran en la figura 34-11) ahora adquieren importancia. El extremo citidina seudouridina

FIGURA 37–1 Formación de aminoacil-tRNA. Una reacción de dos pasos, que comprende la enzima aminoacil-tRNA sintetasa, da por resultado la formación de aminoacil-tRNA. La primera reacción comprende la formación de un complejo de AMP-aminoácido-enzima; este aminoácido activado a continuación se transfiere hacia la molécula de tRNA correspondiente. El AMP y la enzima se liberan, y esta última puede volver a utilizarse. Las reacciones de carga tienen un índice de error (esto es, esterificación del aminoácido incorrecto en $tRNA_x$) de menos de 10^{-4}.

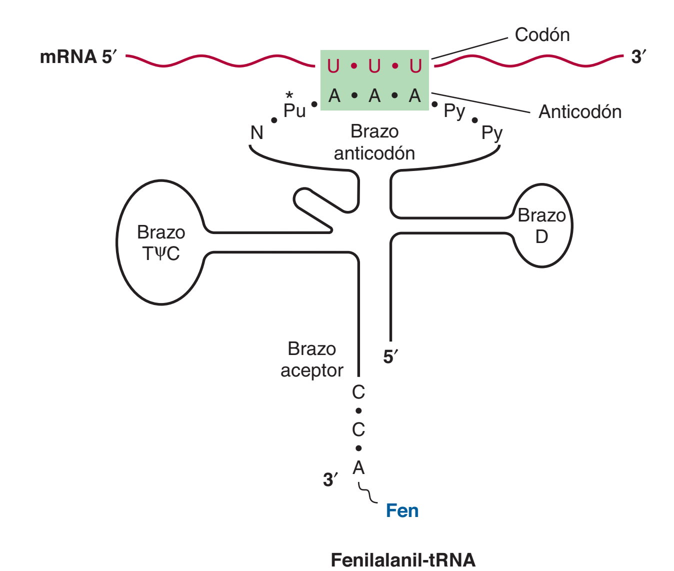


FIGURA 37–2 Reconocimiento del codón por el anticodón. Uno de los codones para fenilalanina es UUU. El tRNA cargado con fenilalanina (Fen) tiene la secuencia complementaria AAA; por ende, forma un complejo de par de base con el codón. La región anticodón típicamente consta de una secuencia de siete nucleótidos: variable (N), purina modificada (PU*), X, Y, Z (aquí, A A A), y dos pirimidinas (Py) en la dirección 3′ a 5′.

ribotimidina (TψC) participa en la unión del aminoacil-tRNA a la superficie ribosómica en el sitio de síntesis de proteína. El brazo D es uno de los centros importantes para el reconocimiento apropiado de una especie de tRNA dada por su aminoacil-tRNA sintetasa apropiada. El brazo aceptor, localizado en la terminal 3′-hidroxilo adenosilo, es el sitio de fijación del aminoácido específico.

La región anticodón consta de siete nucleótidos, y reconoce el codón de tres letras en el mRNA (**figura 37-2**). La lectura de secuencia desde la dirección 3′ hacia 5′ en esa asa anticodón consta de una purina-XYZ-pirimidina-pirimidina-5′ modificada por base, variable. Note que esta dirección de lectura del anticodón es 3′a 5′, mientras el código genético que aparece en el cuadro 37-1 se lee 5′ a 3′, dado que el codón y el asa anticodón de las moléculas de mRNA y tRNA, respectivamente, son **antiparalelos** en su complementariedad del mismo modo que todas las otras interacciones intermoleculares entre cadenas de ácido nucleico.

La degeneración del código genético reside en su mayor parte en el último nucleótido del triplete codón, lo que sugiere que la formación de pares de bases entre este último nucleótido y el nucleótido correspondiente del anticodón no ocurre de manera estricta con base en la regla de Watson-Crick. Esto se llama **bamboleo**; la formación de pares del codón y anticodón puede "bambolear" en este sitio de formación de par de nucleótido a nucleótido específico. Por ejemplo, los dos codones para la arginina, AGA y AGG, pueden unirse al mismo anticodón que tiene un uracilo en su extremo 5′ (UCU). De modo similar, tres codones para glicina —GGU, GGC y GGA— pueden formar un par de bases a partir de un anticodón, 3′ CCI 5′ (esto es, I puede formar par de base con U, C y A). I es un nucleótido inosina purina generado mediante desaminación de adenina (véase la estructura en la figura 33-2), otra de las bases peculiares que a menudo aparecen en moléculas de tRNA.

CUANDO OCURREN CAMBIOS EN LA SECUENCIA DE NUCLEÓTIDO SE PRODUCEN MUTACIONES

Aunque el cambio inicial puede no ocurrir en la cadena plantilla de la molécula de DNA bicatenaria para ese gen, después de la replicación, moléculas de DNA hijas con mutaciones en la cadena plantilla se segregarán y aparecerán en la población de organismos.

Algunas mutaciones ocurren por sustitución de base

Los cambios de base únicos (**mutaciones puntuales**) pueden ser **transiciones** o **transversiones**. En las primeras, una pirimidina dada se cambia a la otra pirimidina, o una purina dada se cambia a la otra purina. Las transversiones son cambios de una purina a una u otra de las dos pirimidinas, o el cambio de una pirimidina hacia una u otra de las dos purinas (**figura 37-3**).

Si la secuencia de nucleótido del gen que contiene la mutación se transcribe hacia una molécula de RNA, la molécula de RNA por supuesto poseerá el cambio de base en la ubicación correspondiente.

Los cambios de base únicos en las moléculas de mRNA pueden tener uno de varios efectos cuando se traducen hacia proteína:

1. Puede haber efecto detectable nulo debido a la degeneración del código; esas mutaciones a menudo se denominan **mutaciones silentes**. Esto sería más probable si la base cambiada en la molécula de mRNA fuera a estar en el tercer nucleótido de un codón. Debido a bamboleo, la traducción de un codón es menos sensible a un cambio en la posición tercera.
2. Ocurrirá un **efecto de sentido equivocado** (o de sentido alterado) cuando se incorpora un aminoácido distinto en el sitio correspondiente en la molécula de proteína. Este aminoácido equivocado —o de sentido equivocado, dependiendo de su ubicación en la proteína específica— podría ser aceptable, parcialmente aceptable, o inaceptable para la función de esa molécula de proteína. A partir de un examen cuidadoso del código genético, puede concluirse que casi todos los cambios de base única darían por resultado el reemplazo de un aminoácido por otro con grupos funcio-

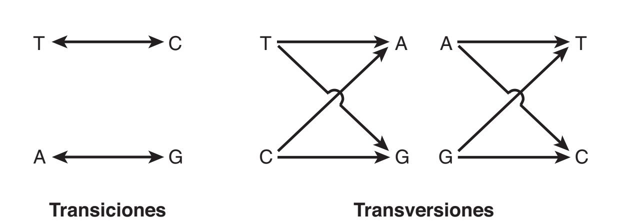


FIGURA 37–3 Representación esquemática de mutaciones por transición y mutaciones por transversión.

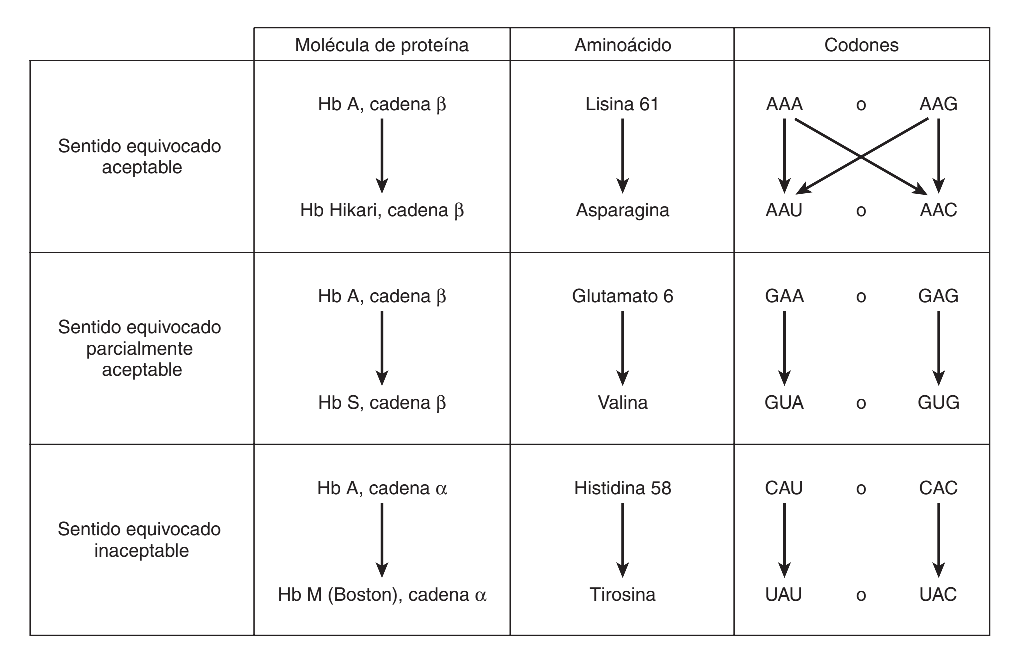


FIGURA 37–4 Ejemplos de tres tipos de mutaciones de sentido equivocado que dan por resultado cadenas de hemoglobina anormales. Se indican las alteraciones de aminoácido y posibles alteraciones en los codones respectivos. La hemoglobina Hikari, con mutación de la cadena β, al parecer tiene propiedades fisiológicas normales, pero está alterada desde el punto de vista electroforético. La hemoglobina S tiene una mutación de la cadena β y función parcial; la hemoglobina S se une al oxígeno pero se precipita cuando se desoxigena; esto causa que los eritrocitos tomen forma de hoz y representa la base molecular y celular de la anemia de células falciformes (figura 6-12). La hemoglobina M Boston, una mutación de la cadena α, permite la oxidación del hierro ferroso hem hacia el estado férrico y, así, no se unirá al oxígeno.

nales más bien similares. Éste es un mecanismo eficaz para evitar cambio drástico de las propiedades físicas de una molécula de proteína. Si ocurre un efecto de sentido equivocado aceptable, la molécula de proteína resultante puede no ser distinguible de la normal. Un sentido equivocado parcialmente aceptable dará por resultado una molécula de proteína con función parcial pero anormal. Si ocurre un efecto de sentido equivocado inaceptable, la molécula de proteína será incapaz de funcionar de manera normal.

3. Puede aparecer un codón **sin sentido** que después daría por resultado la **terminación prematura** de la incorporación de aminoácido hacia una cadena peptídica, y la producción de sólo un fragmento de la molécula de proteína proyectada. Hay probabilidad alta de que la terminación prematura de una molécula de proteína o de un fragmento de péptido hará que no funcione en su papel asignado. En las **figuras 37-4** y **37-5** se presentan ejemplos de los diferentes tipos de mutaciones, y sus efectos sobre el potencial codificador del mRNA.

Las mutaciones por cambio de cuadro se producen por deleción o inserción de nucleótidos en el DNA, que genera mRNA alterados

La deleción de un nucleótido único de la cadena codificadora de un gen da por resultado un cuadro de lectura alterado en el mRNA. La maquinaria que traduce el mRNA no reconoce que falta una base, puesto que no hay puntuación en la lectura de codones. De este modo, se produce una alteración importante de la secuencia de aminoácidos polimerizados (figura 37-5, ejemplo 1). Alterar el cuadro de lectura da por resultado una traducción incomprensible del mRNA en posición distal a la deleción de nucleótido único. La secuencia de aminoácidos en posición distal a esta deleción no sólo es incomprensible, sino que la lectura del mensaje también puede dar por resultado la aparición de un codón sin sentido y, así, la producción de un polipéptido tanto incomprensible como terminado de manera prematura (figura 37-5, ejemplo 3).

Si tres nucleótidos de un múltiplo de tres se eliminan de una región codificadora, el mRNA correspondiente, cuando se traduce, proporcionará una proteína en la cual falta el número correspondiente de aminoácidos (figura 37-5, ejemplo 2). Dado que el cuadro de lectura es un triplete, la fase de lectura no estará alterada para esos codones en posición distal a la deleción. Sin embargo, si hay deleción de uno o dos nucleótidos justo antes del codón de terminación normal o dentro del mismo (codón sin sentido), la lectura de la señal de terminación normal se altera. Esa deleción podría originar lectura a través de la señal de terminación ahora “mutada” en tanto no se encuentra otro codón sin sentido (figura 37-5, ejemplo 1).

Las inserciones de uno o dos no múltiplos de tres nucleótidos en un gen dan por resultado un mRNA en el cual el cuadro de lectura se deforma en el momento de la traducción, y los mismos efectos que ocurren con las deleciones se reflejan en la traducción del mRNA. Esto puede dar por resultado secuencias de aminoácido incomprensibles en posición distal a la inserción, y la generación de un **codón sin sentido** en la inserción o en posición distal a la misma, o quizá lectura a través del codón de termina-

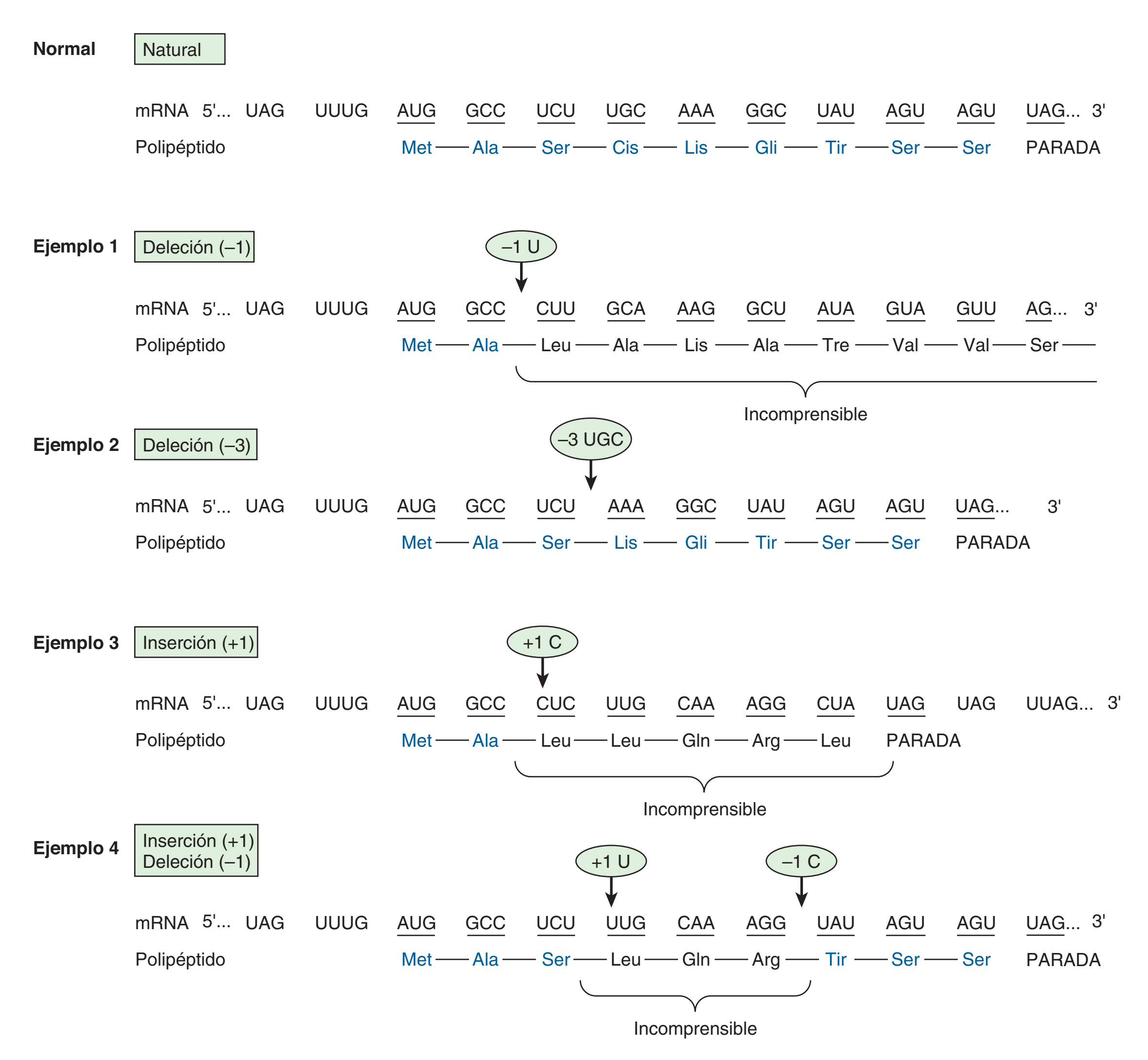


FIGURA 37–5 Ejemplos de los efectos de deleciones e inserciones en un gen sobre la secuencia de la transcripción de mRNA y la cadena polipeptídica traducida desde ese lugar. La flecha indica los sitios de deleciones o inserciones, y los números en los óvalos indican el número de residuos de nucleótido eliminados o insertados. El color en aminoácidos indica aminoácidos en el orden correcto.

ción normal. Después de una deleción en un gen, una inserción (o viceversa) puede restablecer el cuadro de lectura apropiado (figura 37-5, ejemplo 4). El mRNA correspondiente, cuando se tradujera, contendría una secuencia de aminoácido incomprensible entre la inserción y la deleción. Más allá del restablecimiento del cuadro de lectura, la secuencia de aminoácido sería correcta. Puede imaginarse que diferentes combinaciones de deleciones, de inserciones, o de ambas, darían por resultado la formación de una proteína en la cual una porción es anormal pero está rodeada por las secuencias de aminoácidos normales. Esos fenómenos se han demostrado de manera convincente en diversas enfermedades.

Las mutaciones supresoras pueden contrarrestar algunos de los efectos de las mutaciones de sentido equivocado, sin sentido y por cambio de cuadro

La exposición anterior de los productos proteínicos alterados de mutaciones de gen se basa en la presencia de moléculas de tRNA que funcionan normalmente. Sin embargo, en organismos procarióticos y en organismos eucarióticos inferiores, se han descubierto moléculas de tRNA que funcionan de manera anormal, y que son por sí mismas resultados de mutaciones. Algunas de estas moléculas de tRNA anormal tienen la capacidad de unirse a codones alterados, y de decodificarlos, lo que suprime los efectos de mutaciones en distintos genes estructurales que codifican para mRNA mutados. Estas **moléculas de tRNA supresor**, que por lo general se forman como resultado de alteraciones en sus regiones anticodón, tienen la capacidad de suprimir ciertas mutaciones de sentido equivocado, sin sentido y por cambio de cuadro. Sin embargo, dado que las moléculas de tRNA supresoras son incapaces de distinguir entre un codón normal y uno que se produce por una mutación de gen, su presencia en la célula microbiana por lo general da por resultado viabilidad disminuida. Por ejemplo, las moléculas de tRNA supresoras sin sentido pueden suprimir las señales de terminación normales para permitir una lectura continua cuando no es deseable. Las moléculas de tRNA supresoras de cambio de cuadro pueden leer

un codón normal más un componente de un codón yuxtapuesto para proporcionar un cambio de cuadro, también cuando es indeseable. Las moléculas de tRNA supresoras pueden existir en células de mamífero, dado que en ocasiones se ha observado lectura continua de la traducción. En el contexto de laboratorio, estos tRNA supresores, junto con las variantes mutadas de aminoacil tRNA sintetasas, pueden utilizarse para incorporar aminoácidos no naturales hacia ubicaciones definidas dentro de genes alterados que portan mutaciones sin sentido producidas mediante procedimientos de ingeniería. Las proteínas marcadas resultantes pueden usarse para entrecruzamiento *in vivo* e *in vitro* y para estudios biofísicos. Este nuevo recurso ayuda mucho a biólogos interesados en el estudio de los mecanismos de una amplia gama de procesos biológicos.

AL IGUAL QUE LA TRANSCRIPCIÓN, LA SÍNTESIS DE PROTEÍNA PUEDE DESCRIBIRSE EN TRES FASES: INICIO, ALARGAMIENTO Y TERMINACIÓN

Las características estructurales generales de los ribosomas y su proceso de automontaje se comentan en el capítulo 34. Estas entidades particuladas sirven como la maquinaria en la cual la secuencia de nucleótido del mRNA se traduce hacia la secuencia de aminoácidos de la proteína especificada. La traducción del mRNA comienza cerca de su terminal 5′, con la formación del amino terminal correspondiente de la molécula de proteína. El mensaje se lee de 5′ a 3′, y concluye con la formación del carboxilo terminal de la proteína. De nuevo, el concepto de **polaridad** queda de manifiesto. La transcripción de un gen hacia el mRNA correspondiente o su precursor forma primero la terminal 5′ de la molécula de RNA (cap. 36). En procariotas, esto permite el inicio de la traducción del mRNA antes de que se complete la transcripción del gen. En organismos eucarióticos, el proceso de transcripción es nuclear; la traducción del mRNA ocurre en el citoplasma. Esto evita la transcripción y traducción simultáneas en organismos eucarióticos, y hace posible el procesamiento necesario para generar mRNA maduro a partir de la transcripción primaria.

El inicio comprende varios complejos de proteína-RNA

El inicio de la síntesis de proteína requiere que un ribosoma seleccione una molécula de mRNA para traducción (**figura 37-6**). Una vez que el mRNA se une al ribosoma, este último encuentra el cuadro de lectura correcto en el mRNA, y la traducción empieza. Este proceso comprende tRNA, rRNA, mRNA, y al menos 10 factores de inicio eucarióticos (eIF), algunos de los cuales tienen múltiples subunidades (3 a 8). También participan GTP, ATP y aminoácidos. El inicio puede dividirse en cuatro pasos: 1) disociación del ribosoma hacia las subunidades 40S y 60S; 2) unión de un complejo ternario que consta del iniciador met-RNA (met-tRNA^i), GTP, y eIF-2 al ribosoma 40S para formar el complejo de preinicio 43S; 3) unión de mRNA al complejo de preinicio 40S para formar el complejo de inicio 48S, y 4) combinación del complejo de inicio 48S con la subunidad ribosómica 60S para formar el complejo de inicio 80S.

Disociación ribosómica

Dos factores de inicio, eIF-3 y eIF-1A, se unen a la subunidad ribosómica 40S recién disociada. Esto retrasa su reasociación con la unidad 60S, y permite que otros factores de inicio de la traducción se asocien con la subunidad 40S.

Formación del complejo de preinicio 43S

El primer paso en este proceso comprende la unión de GTP por eIF-2. Este complejo binario a continuación se une a tRNA^i met, un tRNA que participa de manera específica en la unión al codón de inicio AUG. (Hay dos tRNA para metionina. Uno especifica metionina para el codón iniciador y el otro para metioninas internas. Cada uno tiene una secuencia de nucleótido singular; ambos son aminoacilados por la misma metionil tRNA sintetasa.) Este complejo ternario se une a la subunidad ribosómica 40S para formar el complejo de preinicio 43S, que se estabiliza mediante asociación con eIF-3 y eIF-1A.

El eIF-2 es uno de los dos puntos de control para el inicio de síntesis de proteína en células eucarióticas. El eIF-2 consta de subunidades α, β y γ. El eIF-2α es fosforilado (en la serina 51) por al menos cuatro proteínas cinasa diferentes (HCR, PKR, PERK y GCN2) que se activan cuando una célula está bajo estrés, y cuando el gasto de energía requerido para la síntesis de proteína sería perjudicial. Esas condiciones incluyen carencia acentuada de aminoácido y glucosa, infección por virus, presencia intracelular de cantidades grandes de proteínas plegadas de manera errónea, privación de suero, hiperosmolalidad y choque por calor. La PKR es en particular interesante a este respecto. Esta cinasa es activada por virus, y proporciona un mecanismo de defensa del huésped que disminuye la síntesis de proteína, incluso la síntesis de proteína viral, lo que inhibe la replicación de virus. El eIF-2α fosforilado se une de manera estrecha a la proteína reciclante de GTP-GDP eIF-2β, y la inactiva, lo que evita la formación del complejo de preinicio 43S y bloquea la síntesis de proteína.

Formación del complejo de inicio 48S

Las terminales 5′ de casi todas las moléculas de mRNA en células eucarióticas están "cubiertas" (cap. 36). Esta cubierta de metil-guanosil trifosfato facilita la unión del mRNA al complejo de preinicio 43S. Un complejo de proteína de unión a cubierta, eIF-4F (4F), que consta de eIF-4E (4E) y el complejo eIF-4G (4G)-eIF4A (4A), se une a la cubierta por medio de la proteína 4E. A continuación, eIF-4B (4B) se une a, y reduce, la estructura secundaria compleja del extremo 5′ del mRNA por medio de actividades de ATPasa y de helicasa dependiente de ATP. La asociación del mRNA con el complejo de preinicio 43S para formar el complejo de inicio 48S requiere hidrólisis de ATP. El eIF-3 es

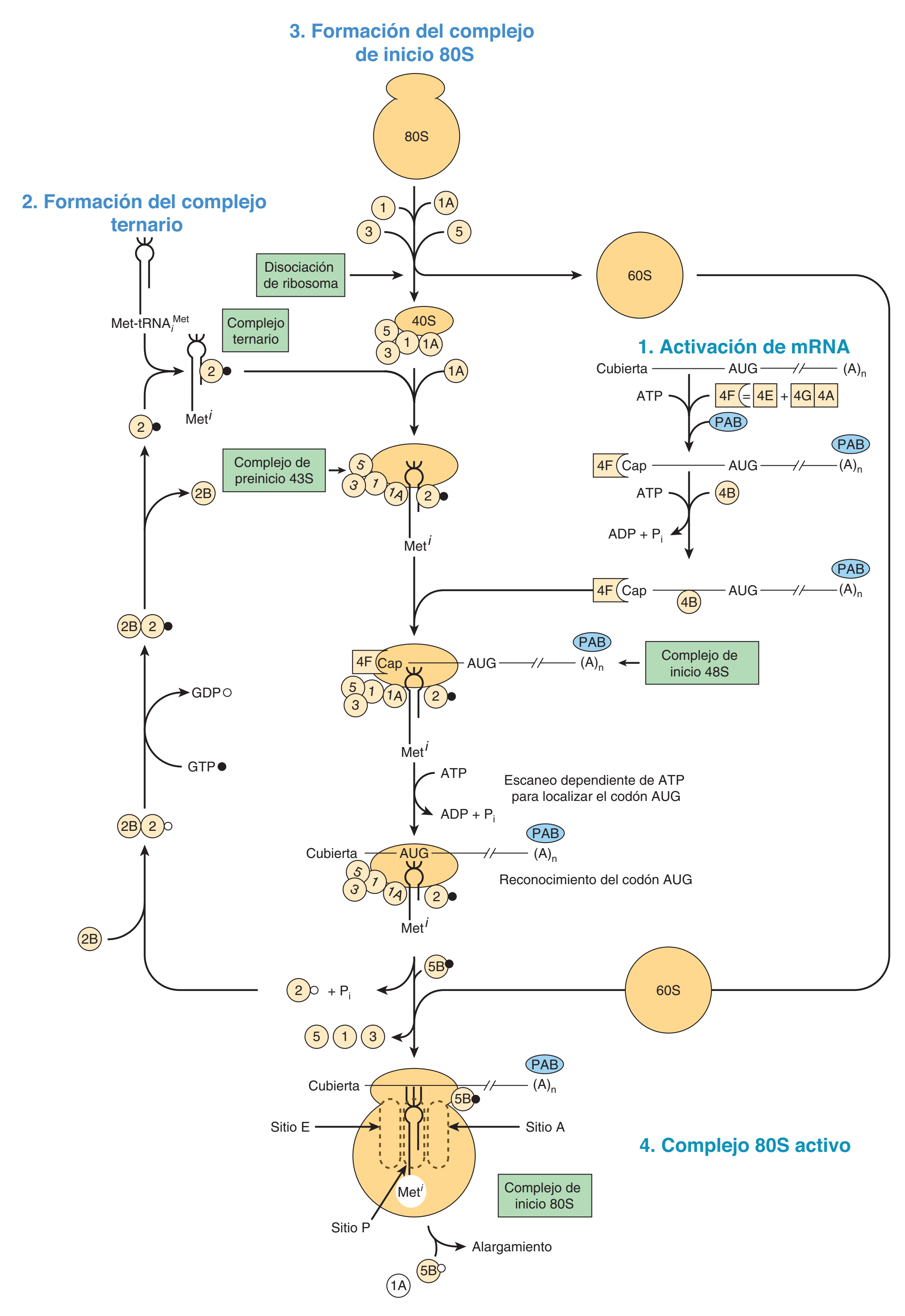


FIGURA 37–6 Representación esquemática de la fase de inicio de la síntesis de proteína en una plantilla de mRNA eucariótico que contiene una cubierta 5′ (Cap) y una terminal 3′ poli(A) [(A)$_n$]. Este proceso se efectúa en varios pasos: 1) activación del mRNA (**derecha**); 2) formación del complejo ternario que consta de tRNAmet^i, factor de inicio eIF-2, y GTP (**izquierda**); 3) escaneo en el complejo 43S para localizar el codificador iniciador AUG, lo que forma el complejo de inicio 48S (**centro**), y 4) formación del complejo de inicio 80S activo (**abajo, centro**). (Véanse los detalles en el texto.) (GTP, •; GDP, ∘.) Los diversos factores de inicio aparecen en forma abreviada como círculos o cuadrados, por ejemplo, eIF-3, (③), eIF-4F, (4F), ((4F)). 4·F es un complejo que consta de 4E y 4A unidos a 4G (figura 37-7). La proteína de unión de poli A, que interactúa con el mRNA cola 3′-poli A, se abrevia PAB. El conjunto de factores de proteína y la subunidad ribosómica 40S comprenden el complejo de preinicio 43S. Cuando está unido a mRNA, esto forma el complejo de preinicio 48S.

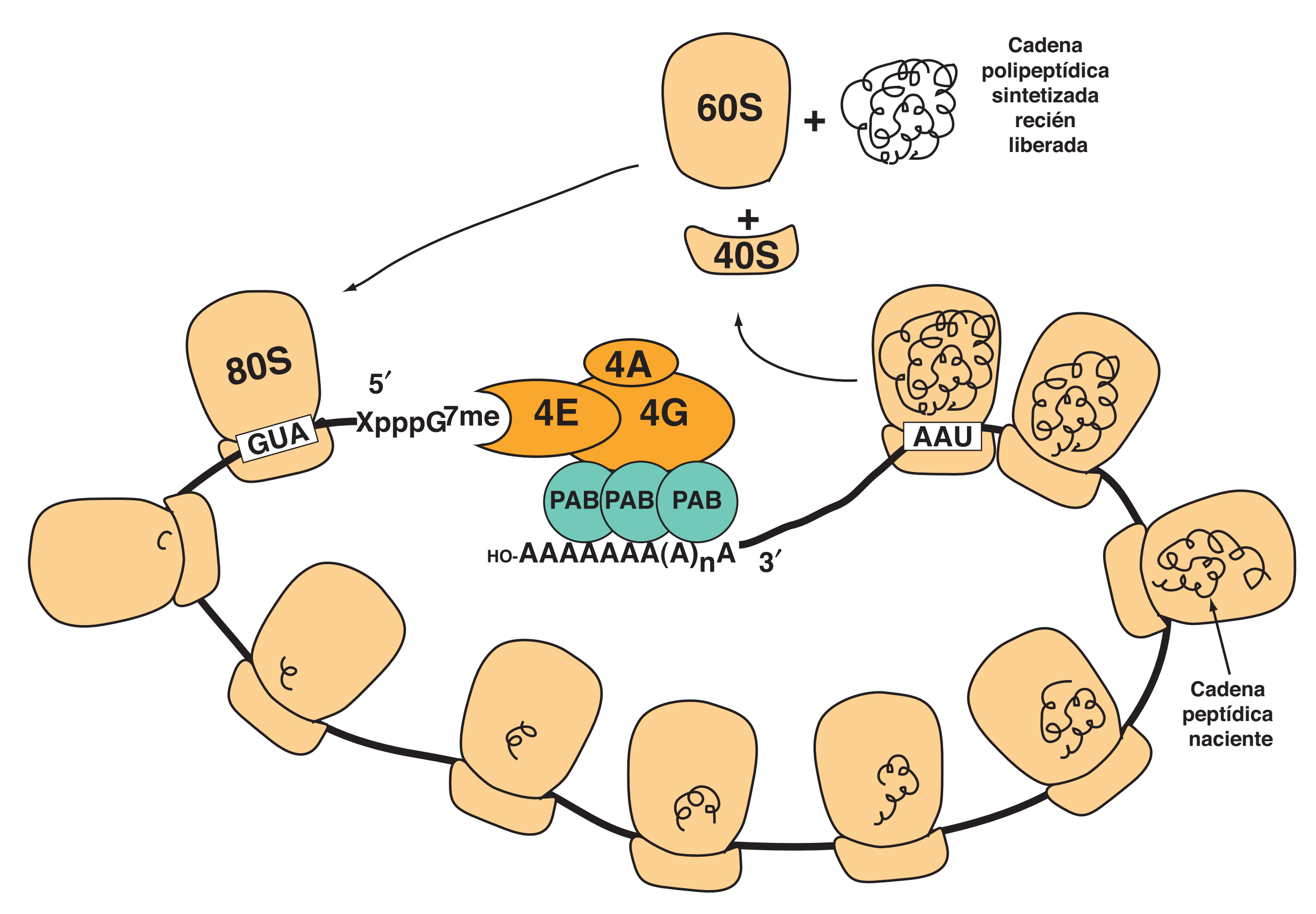


FIGURA 37–7 Esquema que ilustra la circularización del mRNA por medio de interacciones entre una proteína y otra entre eIF4F unido a m⁷G y proteína de unión a PoliA unida a cola poli A. El eIF4F, compuesto de subunidades eIF4A, 4E y 4G se une con alta afinidad a la "cubierta" 5′-m7G mRNA (-XpppG^{7me}) torrente arriba del codón de inicio de traducción (AUG). La subunidad eIF4G del complejo también se une con alta afinidad a la proteína de unión Poli A (PAB). Dado que la PAB está unida de manera estrecha a la cola 3′-poli A mRNA (OH-AAAAAAA(A)$_n$A), el resultado es circularización. Se muestran múltiples ribosomas 80S que están en el proceso de traducción del mRNA circularizado hacia proteína (líneas enroscadas de color negro), lo que forma un polisoma. En el momento de encontrar un codón de terminación (UAA), termina la traducción, lo que lleva a liberación y disociación del ribosoma 80S hacia subunidades 60S, 40S y proteína recién traducida. Las subunidades ribosómicas disociadas pueden reciclarse por otra ronda de traducción (figura 37-6).

una proteína clave porque se une con alta afinidad al componente 4G de 4F, y enlaza este complejo a la subunidad ribosómica 40S. Después de la asociación del complejo de preinicio 43S con la cubierta de mRNA, y reducción ("fusión") de la estructura secundaria cerca del extremo 5′ del mRNA por medio de la acción de la helicasa 4B y ATP, el complejo transloca 5′ → 3′ y escanea el mRNA para buscar un codón de inicio idóneo. Por lo general éste es el AUG más 5′, pero el codón de inicio preciso está determinado por las llamadas **secuencias de consenso Kozak** que rodean al AUG:

```
−3    −1    +4
 |     |
GCCA/GCCAUGG
```

Se prefiere más la presencia de una purina en las posiciones −3 y +4 respecto al AUG.

Función de la cola poli(A) en el inicio

Experimentos bioquímicos y genéticos en levaduras han revelado que la cola 3′ poli(A) y su proteína de unión, PAB1, se requieren para el inicio eficiente de la síntesis de proteína. Estudios adicionales mostraron que la cola poli(A) estimula el reclutamiento de la subunidad ribosómica 40S al mRNA por medio de una serie compleja de interacciones. La PAB1 (**figura 37-7**), unida a la cola poli(A), interactúa con eIF-4G, y la subunidad 4E de eIF-4F que está unido a la cubierta. Se forma una estructura circular que ayuda a dirigir la subunidad ribosómica 40S al extremo 5′ del mRNA y probablemente también estabiliza a los mRNA contra degradación exonucleolítica. Esto ayuda a explicar por qué las estructuras de cubierta y cola poli(A) tienen un efecto sinérgico sobre la síntesis de proteína. De hecho, interacciones proteína-proteína diferenciales entre represores de la traducción del mRNA generales y específicos, y el eIF-4 dan por resultado control de la traducción dependiente de m⁷GCap (**figura 37-8**).

Formación del complejo de inicio 80S

La unión de la subunidad ribosómica 60S al complejo de inicio 48S comprende hidrólisis del GTP unido al eIF-2 por eIF-5. Esta

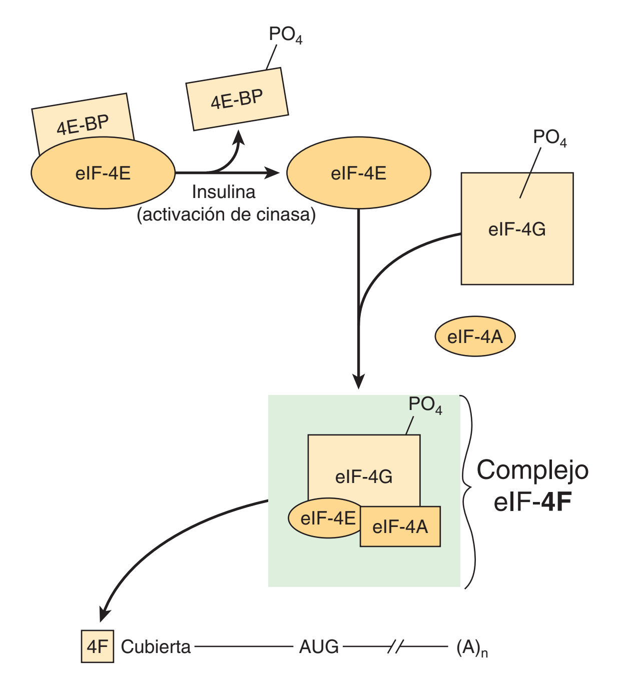


FIGURA 37–8 Activación de eIF-4E por la insulina, y formación de la cubierta que une al complejo eIF-4F. El complejo de cubierta 4F mRNA se describe como en las figuras 37-6 y 37-7. El complejo 4F consta de eIF-4E (4E), eIF-4A y eIF-4G. 4E es inactivo cuando es unido por uno de una familia de proteínas de unión (4EBP). La insulina y los factores mitogénicos (p. ej., IGF-1, PDGF, interleucina-2 y angiotensina II) activan a las vías de PI3 cinasa/AKT cinasa, lo que activa a la mTOR cinasa, y da por resultado la fosforilación de 4E-BP (figura 42-8). El 4E-BP fosforilado se disocia de 4E, y a continuación este último es capaz de formar el complejo 4F y unirse a la cubierta del mRNA. Estos péptidos de crecimiento también inducen fosforilación del 4G mismo por las vías de mTOR y MAP cinasa. El 4F fosforilado se une con mucho mayor avidez a la cubierta que el 4F no fosforilado.

reacción origina la liberación de los factores de inicio unidos al complejo de inicio 48S (estos factores a continuación se reciclan), y la asociación rápida de las subunidades 40S y 60S para formar el ribosoma 80S. En este punto, el met-tRNA^i está sobre el sitio P del ribosoma, listo para que comience el ciclo de alargamiento.

La regulación de eIF-4E controla el índice de inicio

El complejo 4F es en particular importante en el control del índice de traducción de proteína. Como se describió, 4F es un complejo que consta de 4E, que se une a la estructura de cubierta m^{7}G en el extremo 5′ del mRNA, y 4G, que sirve como una proteína de andamiaje. Además de unirse a 4E, 4G se une a eIF-3, que enlaza el complejo a la subunidad ribosómica 40S. También se une a 4A y 4B, el complejo de ATPasa-helicasa que ayuda a desenrollar el RNA (figura 37-8).

4E se encarga del reconocimiento de la estructura de cubierta del mRNA, un paso limitante en la traducción. Este proceso se regula más por medio de fosforilación. La insulina y factores de crecimiento mitogénicos dan por resultado la fosforilación de 4E sobre ser 209 (o tr 210). 4E fosforilado se une a la cubierta con mucho más avidez que la forma no fosforilada, lo que aumenta el índice de inicio. Componentes de la vía de la MAP cinasa, las cinasas PI3K, mTOR, RAS y S6 (figura 42-8), parecen participar en estas reacciones de fosforilación.

La actividad de 4E está regulada en una segunda vía, y ésta también comprende fosforilación. Una serie de proteínas recién descubiertas se unen a 4E y lo desactivan. Estas proteínas comprenden 4EBP1 (BP1, también conocida como PHAS-1) y las proteínas estrechamente relacionadas 4E-BP2 y 4E-BP3. BP1 se une con alta afinidad a 4E. La asociación [4E]•[BP1] evita que 4E se una a 4G (para formar 4F). Dado que esta interacción es esencial para la unión de 4F a la subunidad ribosómica 40S, y para colocar de manera correcta esto sobre el mRNA cubierto, BP-1 inhibe con eficacia el inicio de la traducción.

La insulina y otros factores de crecimiento dan por resultado la fosforilación de BP-1 en siete sitios únicos. La fosforilación de BP-1 da por resultado su disociación de 4E, y no puede volver a unirse sino hasta que se desfosforilan sitios cruciales. Estos efectos sobre la activación de 4E explican en parte de qué modo la insulina causa un notorio aumento postranscripcional de la síntesis de proteína en el hígado, el tejido adiposo y el músculo.

El alargamiento también es un proceso de múltiples pasos, facilitado por factor accesorio

El alargamiento, es un proceso cíclico en el ribosoma, en el cual un aminoácido a la vez se añade a la cadena peptídica naciente (**figura 37-9**). La secuencia peptídica está determinada por el orden de los codones en el mRNA. El alargamiento comprende varios pasos catalizados por proteínas llamadas factores de alargamiento (EF). Estos pasos son: 1) unión de aminoacil-tRNA al sitio A, 2) formación de enlace peptídico, 3) translocación del ribosoma sobre el mRNA y 4) expulsión del tRNA desacilado de los sitios P y E.

Unión de aminoacil-tRNA al sitio A

En el ribosoma 80S completo que se forma durante el proceso de inicio, tanto el sitio A (sitio aminoacilo o aceptor) como el E (sitio de salida del tRNA desacilado) están libres. La unión del aminoacil-tRNA apropiado en el sitio A requiere reconocimiento de codón apropiado. El **factor de alargamiento 1A** (**EF1A**) forma un complejo ternario con GTP y el aminoacil-tRNA que está entrando (figura 37-9). A continuación, este complejo permite que el aminoacil-tRNA correcto entre al sitio A con la liberación de EF1A•GDP y fosfato. La hidrólisis de GTP es catalizada por un sitio activo en el ribosoma; la hidrólisis induce un cambio conformacional en el ribosoma, lo que aumenta de manera concomitante la afinidad por el tRNA. Como se muestra en la figura 37-9, EF1A-GDP se recicla entonces hacia EF1A-GTP, con la ayuda de otros factores proteínicos solubles y GTP.

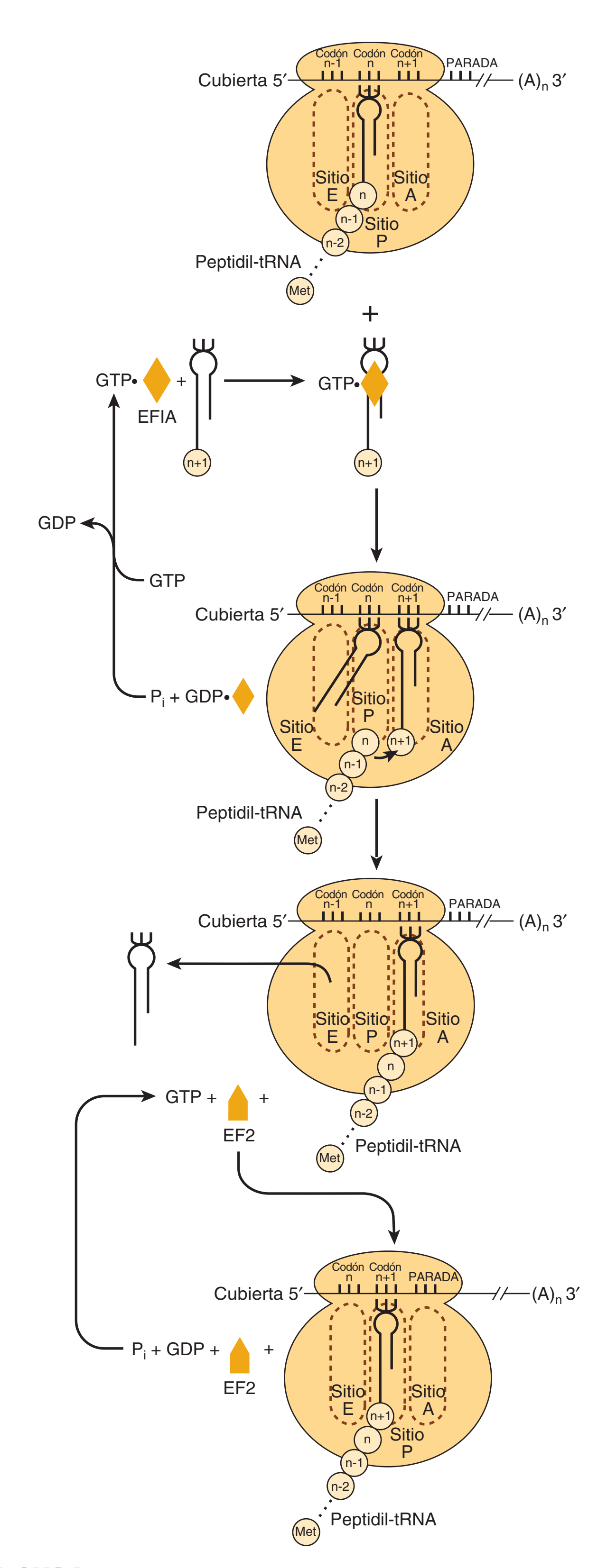


FIGURA 37–9 Representación esquemática del proceso de alargamiento de péptido de la síntesis de proteína. Los círculos pequeños etiquetados n – 1, n, n + 1, etc., representan los residuos aminoácido de la molécula de proteína recién formada, y codones correspondientes en el mRNA. EFIA y EF2 representan los factores de alargamiento 1 y 2, respectivamente. El peptidil-tRNA, aminoacil-tRNA y los sitios de salida (*Exit*) en el ribosoma están representados por el sitio P, el sitio A y el sitio E, respectivamente.

CUADRO 37–3 Evidencia de que el rRNA es peptidiltransferasa

- Los ribosomas pueden hacer enlaces peptídicos incluso cuando las proteínas se eliminan o desactivan.
- Ciertas partes de la secuencia del rRNA están muy conservadas en todas las especies.
- Estas regiones conservadas están en la superficie de la molécula de RNA.
- El RNA puede ser catalítico.
- Las mutaciones que dan por resultado resistencia a antibiótico en el ámbito de la síntesis de proteína se encuentran más a menudo en el rRNA que en los componentes proteínicos del ribosoma.
- La estructura cristalina en rayos X de subunidad grande unida a tRNA sugiere un mecanismo detallado.

Formación de enlace peptídico

El grupo α-amino del nuevo aminoacil-tRNA en el sitio aún lleva a cabo un ataque nucleofílico sobre el grupo carboxilo esterificado del peptidil-tRNA que ocupa el sitio P (sitio peptidilo o polipéptido). En el momento del inicio, este sitio está ocupado por el iniciador met-tRNA^{i}. Esta reacción es catalizada por una **peptidiltransferasa**, un componente del RNA 28S de la subunidad ribosómica 60S. Éste es otro ejemplo de actividad de ribozima, e indica una función directa importante —y previamente no sospechada— para el RNA en la síntesis de proteína (**cuadro 37-3**). Dado que el aminoácido en el aminoacil-tRNA ya está “activado”, no se requiere una fuente de energía adicional para esta reacción. La reacción da por resultado la fijación de la cadena peptídica en crecimiento al tRNA en el sitio A.

Translocación

El tRNA ahora desacilado se fija mediante su anticodón al sitio P en un extremo y mediante la cola CCA abierta a un sitio **de salida (*exit*) (E)** en la subunidad ribosómica grande (figura 37-9, en medio). En este punto, el **factor de alargamiento 2** (**EF2**) se une al peptidil-tRNA y lo desplaza del sitio A al sitio P. A su vez, el tRNA desacilado está en el sitio E, desde el cual abandona el ribosoma. El complejo EF2-GTP se hidroliza hacia EF2-GDP, lo que mueve con eficacia el mRNA hacia delante un codón, y deja el sitio A abierto para ocupación por otro complejo ternario de tRNA aminoácido-EF1AGTP y otro sitio de alargamiento.

La carga de la molécula de tRNA con la porción aminoacilo requiere la hidrólisis de un ATP hacia un AMP, equivalente a la hidrólisis de dos ATP hacia dos ADP y fosfatos. La entrada del aminoacil-tRNA al sitio A da por resultado la hidrólisis de un GTP hacia GDP. La translocación del peptidil-tRNA recién formado en el sitio A hacia el sitio P por EF2 origina de manera similar hidrólisis de GTP hacia GDP y fosfato. De este modo, los requerimientos de energía para la formación de un enlace peptídico incluyen el equivalente de la hidrólisis de dos moléculas de ATP hacia ADP, y de dos moléculas de GTP hacia GDP, o la hidrólisis de cuatro enlaces de fosfato de alta energía. Un ribosoma eucariótico puede incorporar hasta seis aminoácidos por segundo; los ribosomas procarióticos incorporan hasta 18 por segundo. De este modo, el proceso de síntesis de péptido

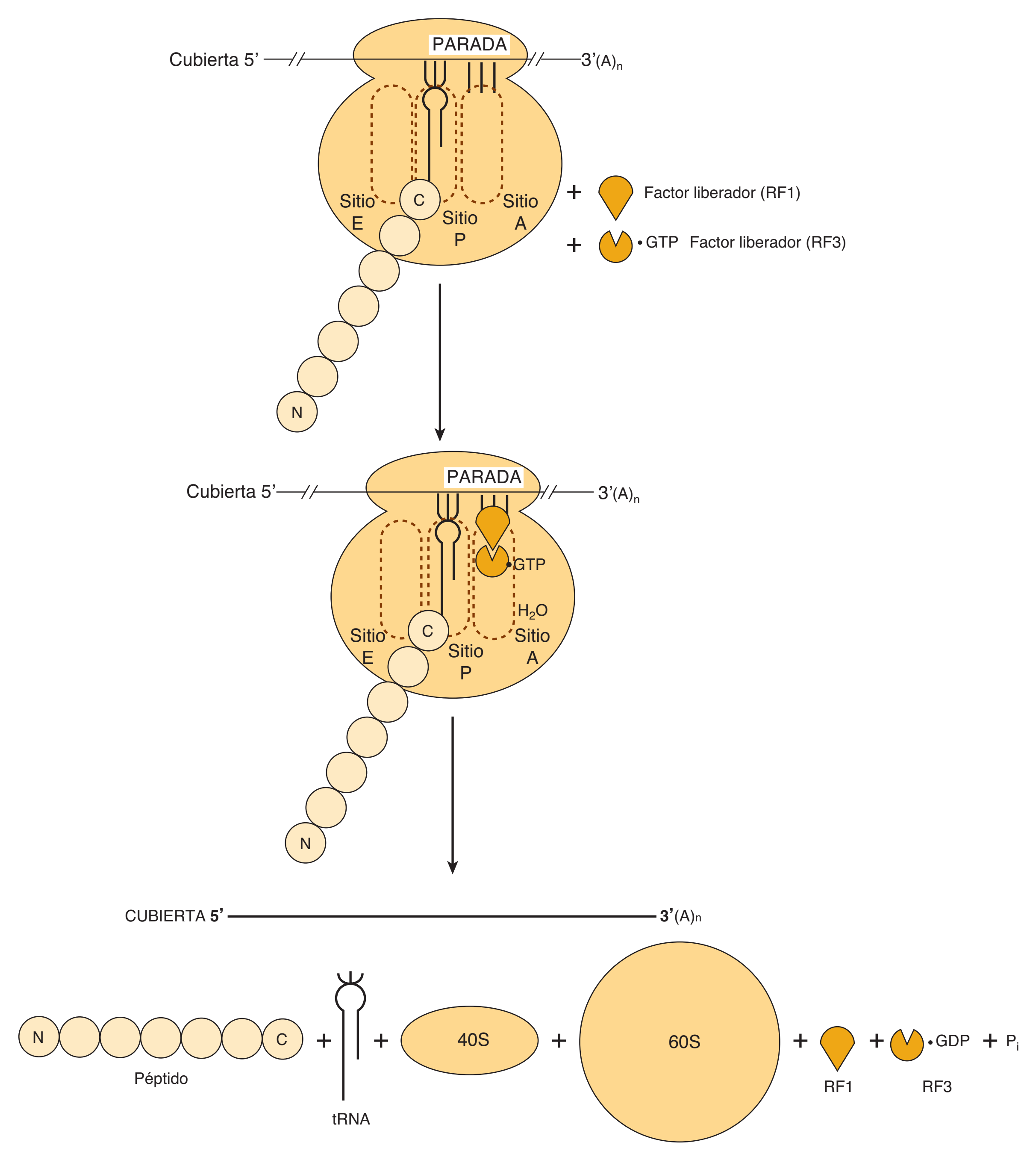


FIGURA 37–10 **Representación esquemática del proceso de terminación de la síntesis de proteína.** Los sitios peptidil-tRNA, aminoacil-tRNA y de salida (*exit*) están indicados como sitio P, sitio A y sitio E, respectivamente. El codón de terminación (de parada) está indicado por las tres barras verticales y parada. El factor liberador RF1 se une al codón de parada. El factor liberador RF3, con GTP unido, se une a RF1. La hidrólisis del complejo peptidil-tRNA se muestra mediante la entrada de H_2O. N y C indican los aminoácidos amino y carboxilo terminales de la cadena polipeptídica naciente, respectivamente, e ilustran la polaridad de la síntesis de proteína.

que requiere energía ocurre con gran rapidez y exactitud en tanto no se llega a un codón de terminación.

La terminación ocurre cuando se reconoce un codón de parada

En comparación con el inicio y el alargamiento, la terminación es un proceso relativamente simple (**figura 37-10**). Después de que múltiples ciclos de alargamiento culminan en polimerización de aminoácidos específicos hacia una molécula de proteína, aparece en el sitio A el codón de parada o de terminación del mRNA (UAA, UAG, UGA). En circunstancias normales, no hay tRNA con un anticodón capaz de reconocer esa señal de terminación. El **factor liberador RF1** reconoce que un codón de parada reside en el sitio A (figura 37-10). RF1 es unido por un complejo que consta del **factor de liberación RF3** con GTP unido. Este complejo, con la peptidil transferasa, promueve la hidrólisis del enlace entre el péptido y el tRNA que ocupa el sitio P. De este modo, se añade una molécula de agua en lugar de un aminoácido. Esta hidrólisis libera la proteína y el tRNA del sitio

P. En el momento de la hidrólisis y liberación, el **ribosoma 80S se disocia** hacia sus subunidades 40S y 60S, que entonces se reciclan (figura 37-7). Por ende, los factores de liberación son proteínas que hidrolizan el enlace peptidil-tRNA cuando un codón de parada ocupa el sitio A. A continuación, el mRNA se libera del ribosoma, que se disocia hacia las subunidades 40S y 60S que lo componen, y puede repetirse otro ciclo.

Los polisomas son montajes de ribosomas

Muchos ribosomas pueden traducir la misma molécula de mRNA de manera simultánea. Debido a su tamaño relativamente grande, las partículas de ribosoma no se pueden fijar a un mRNA con menos de 35 nucleótidos de separación. Múltiples ribosomas en la misma molécula de mRNA forman un **polirribosoma**, o "polisoma" (figura 37-7). En un sistema no restringido, el número de ribosomas fijos a un mRNA (y, así, el tamaño de los polirribosomas) tiene correlación positiva con la longitud de la molécula de mRNA.

Los polirribosomas que están sintetizando de manera activa proteínas pueden existir como partículas libres en el citoplasma celular, o estar fijos a hojas de material citoplásmico membranoso denominadas **retículo endoplásmico**. El aspecto "rugoso" que se observa en la microscopia electrónica depende de la fijación de los ribosomas articulados al retículo endoplásmico. Las proteínas sintetizadas por los ribosomas fijos se sacan hacia el espacio de la cisterna entre las hojas del retículo endoplásmico rugoso, y se exportan desde ahí. El aparato de Golgi aglomera algunos de los productos proteínicos del retículo endoplásmico rugoso para exportación final (cap. 46). Las partículas polirribosómicas libres en el citosol se encargan de la síntesis de proteínas requeridas para las funciones intracelulares.

Los mRNA que no se están traduciendo pueden formar partículas de ribonucleoproteína que se acumulan en organelos citoplásmicos llamados cuerpos P

Los mRNA, unidos por proteínas aglomeradoras específicas, y exportados desde el núcleo como partículas de ribonucleoproteínas (RNP), a veces no se asocian de inmediato con ribosomas para ser traducidos. En lugar de eso, mRNA específicos pueden asociarse con los constituyentes proteínicos que forman los cuerpos P, pequeños compartimientos densos que incorporan mRNA como mRNP (**figura 37-11**). Estos organelos citoplás-

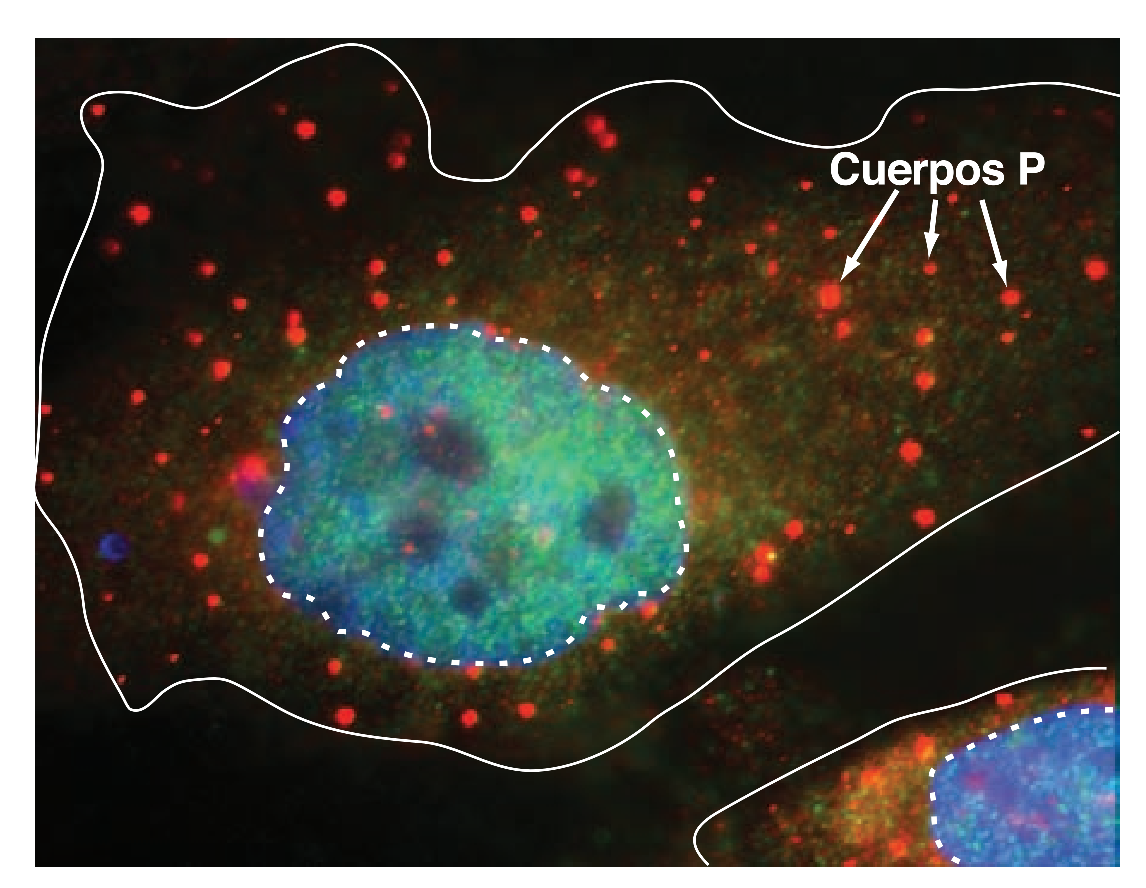


FIGURA 37–11 El cuerpo P es un organelo citoplásmico que modula el metabolismo del mRNA. Se muestra una fotomicrografía de dos células de mamífero en las cuales un constituyente proteínico separado único del cuerpo P se ha visualizado usando el anticuerpo marcado con fluorescencia específico cognado. Los cuerpos P aparecen como círculos luminosos de tamaño variable en todo el citoplasma. Las membranas celulares están indicadas por una línea continua de color blanco, y los núcleos, mediante una línea discontinua. Los núcleos se contratiñeron usando un colorante fluorescente con diferentes espectros de excitación/emisión de fluorescencia desde el anticuerpo marcado usado para identificar cuerpos P; el colorante nuclear se intercala entre pares de base de DNA. Modificada de http://www.mcb.arizona.edu/parker/WHAT/what.htm. (Usada con autorización del Dr. Roy Parker.)

micos se relacionan con gránulos que contienen mRNA pequeños similares que se encuentran en neuronas y ciertas células maternas. Los cuerpos P son sitios de represión de la traducción y de descomposición del mRNA. Se ha sugerido que más de 35 proteínas distintas residen de manera exclusiva o extensa dentro de los cuerpos P. Estas proteínas varían desde enzimas que descubren el mRNA, RNA helicasas y RNA exonucleasas (5′ a 3′ y 3′ a 5′), hasta componentes involucrados en la función del miRNA y en el control de calidad del mRNA. Sin embargo, la incorporación de una mRNP no es una "sentencia de muerte" inequívoca del mRNA. De hecho, aunque todavía no se entienden por completo los mecanismos, ciertos mRNA parecen almacenarse temporalmente en los cuerpos P y después recuperarse y utilizarse para la traducción de proteína. Esto sugiere que hay un equilibrio donde las funciones citoplásmicas del mRNA (traducción y degradación) son controladas por la interacción dinámica del mRNA con polisomas y cuerpos P.

La maquinaria de la síntesis de proteína puede mostrar respuesta a amenazas ambientales

La **ferritina**, una proteína de unión a hierro, evita que el hierro ionizado (Fe^{2+}) alcance concentraciones tóxicas dentro de las células. El hierro elemental estimula la síntesis de ferritina al causar la liberación de una proteína citoplásmica que se une a una región específica en la región 5′ no traducida del mRNA de ferritina. La alteración de esta interacción entre proteína y mRNA activa al mRNA de ferritina, y da por resultado su traducción. Este mecanismo proporciona control rápido de la síntesis de una proteína que secuestra Fe^{2+}, una molécula en potencia tóxica. De modo similar, el estrés ambiental y la privación de nutrientes inhiben los papeles positivos de mTOR (figura 37-8; figura 42-8) sobre la promoción de la activación de la formación de complejo eIF4F y 48S.

Muchos virus se apropian de la maquinaria de síntesis de proteína de la célula huésped

La maquinaria de síntesis de proteína también puede modificarse de maneras perjudiciales. **Los virus se replican usando los procesos de la célula huésped**, incluso los involucrados en la síntesis de proteína. Algunos mRNA virales se traducen con mucho mayor eficiencia que los de la célula huésped (p. ej., virus de la encefalomiocarditis). Otros, como los reovirus y el virus de la estomatitis vesicular, se replican con eficiencia y así, sus abundantes mRNA tienen una ventaja competitiva sobre los mRNA de la célula huésped para factores de traducción limitados. Otros virus inhiben la síntesis de proteína por la célula huésped al evitar la asociación de mRNA con el ribosoma 40S.

El poliovirus y otros picornavirus adquieren una ventaja selectiva al alterar la función del complejo 4F. Los mRNA de estos virus carecen de una estructura de cubierta para dirigir la unión de la subunidad ribosómica 40S (véase antes). En lugar de eso, dicha subunidad entra en contacto con un **sitio de entrada ribosómico interno** (**IRES**) en una reacción que requiere 4G pero no 4E. El virus adquiere una ventaja selectiva al tener una proteasa que ataca a G4 y elimina el sitio de unión a 4E amino terminal. Ahora, es imposible que se forme el complejo 4E-4G (4F), de modo que la subunidad ribosómica 40S no puede dirigirse hacia mRNA cubiertos. De este modo se suprime la traducción de la célula huésped. El fragmento 4G puede dirigir la unión de la subunidad ribosómica 40S a mRNA que contienen IRES, de modo que la traducción del mRNA viral es muy eficiente (**figura 37-12**). Estos virus también promueven la desfosforilación de BP1 (PHAS-1), lo que disminuye la traducción dependiente de cubierta (4E) (figura 37-8).

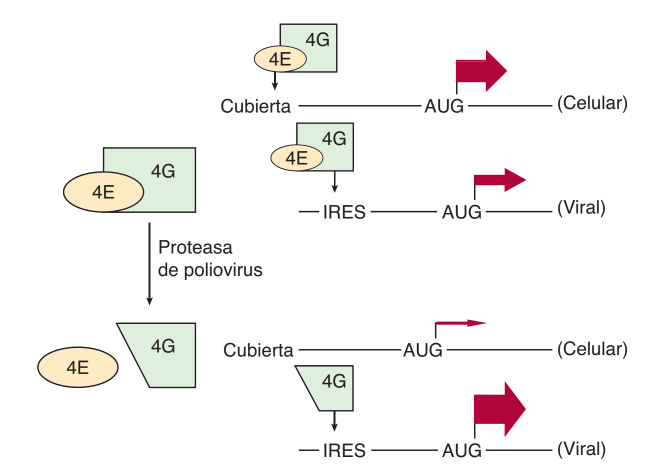


FIGURA 37–12 Los picornavirus alteran el complejo 4F. El complejo 4E-4G (4F) dirige la subunidad ribosómica 40S hacia el mRNA cubierto típico (véase el texto). 4G solo es suficiente para dirigir la subunidad 40S hacia el sitio de entrada ribosómico interno (IRES) de mRNA virales. Para obtener ventaja selectiva, ciertos virus (p. ej., poliovirus) expresan una proteasa que divide el sitio de unión a 4E desde el extremo aminoterminal de 4G. Este 4G truncado puede dirigir la subunidad ribosómica 40S hacia mRNA que tienen un IRES, pero no hacia los que tienen una cubierta. Las anchuras de las flechas indican el índice de inicio de la traducción desde el codón AUG en cada ejemplo. Otros virus utilizan procesos separados para efectuar el inicio selectivo de traducción en sus mRNA virales cognados por medio de elementos de IRES.

EL PROCESAMIENTO POSTRADUCCIONAL AFECTA LA ACTIVIDAD DE MUCHAS PROTEÍNAS

Algunos virus de animales, entre los que destacan el HIV, el poliovirus y el virus de la hepatitis A, sintetizan proteínas policistrónicas largas a partir de una molécula de mRNA larga. Las moléculas de proteína traducidas a partir de estos mRNA largos después se dividen en sitios específicos para proporcionar las varias proteínas específicas requeridas para la función viral. En células de animales, muchas proteínas celulares se sintetizan a partir de la plantilla de mRNA como una molécula precursora, que después debe modificarse para lograr la proteína activa. El prototipo es la insulina, molécula pequeña que tiene dos cadenas polipeptídicas con puentes disulfuro intercadena e intracadena. La molécula se sintetiza como un precursor de cadena única, o **prohormona**, que se pliega para permitir que se formen los puentes disulfuro. A continuación una proteasa específica

recorta el segmento que conecta las dos cadenas, lo que forma la molécula de insulina funcional (figura 41-12).

Muchos otros péptidos se sintetizan como proproteínas que requieren modificaciones antes de alcanzar actividad biológica. Muchas de las modificaciones postraduccionales comprenden la eliminación de residuos aminoácido amino terminal por aminopeptidasas específicas. El colágeno, una proteína abundante en los espacios extracelulares de eucariotas superiores, se sintetiza como procolágeno. Tres moléculas polipeptídicas de procolágeno, a menudo con secuencia no idéntica, se alinean a sí mismas de una manera particular que depende de la existencia de péptidos amino terminales específicos (figura 5-11). A continuación enzimas específicas llevan a cabo hidroxilaciones y oxidaciones de residuos aminoácido específicos dentro de las moléculas de procolágeno para proporcionar enlaces covalentes para mayor estabilidad. Los péptidos amino terminal se eliminan de la molécula para formar el producto final, una molécula de colágeno fuerte e insoluble. Ocurren muchas otras modificaciones postraduccionales de proteínas. Por ejemplo, la modificación covalente por medio de acetilación, fosforilación, metilación, ubiquitilación y glucosilación, es frecuente (ver capítulo 5 y cuadro 35-1).

MUCHOS ANTIBIÓTICOS TRABAJAN AL INHIBIR DE MANERA SELECTIVA LA SÍNTESIS DE PROTEÍNA EN BACTERIAS

Los ribosomas en bacterias y en las mitocondrias de células eucarióticas superiores difieren del ribosoma de mamífero descrito en el capítulo 34. El ribosoma bacteriano es de menor tamaño (70S en lugar de 80S), y tiene una dotación diferente, un poco más sencilla, de RNA y moléculas de proteína. Esta diferencia puede explotarse para propósitos clínicos, porque muchos antibióticos eficaces interactúan de manera específica con las proteínas y los RNA de ribosomas procarióticos y, así, sólo inhiben la síntesis de proteína bacteriana. Esto da por resultado paro del crecimiento o muerte de la bacteria. Los miembros más útiles de esta clase de antibióticos (p. ej., tetraciclinas, lincomicina, eritromicina y cloranfenicol) no interactúan con componentes de ribosomas eucarióticos y, así, no son tóxicos para eucariotas. La tetraciclina evita la unión de aminoacil-tRNA al sitio A del ribosoma bacteriano. El cloranfenicol y la clase macrólido de antibióticos funcionan al unirse a rRNA 23S, lo cual es interesante en vista de la participación recién apreciada del rRNA en la formación de enlace peptídico por medio de su actividad de peptidil transferasa. Es necesario mencionar que la estrecha similitud entre ribosomas procarióticos y mitocondriales puede llevar a complicaciones en el uso de algunos antibióticos.

Otros antibióticos inhiben la síntesis de proteína en todos los ribosomas (**puromicina**) o sólo en los de células eucarióticas (**cicloheximida**). La puromicina (**figura 37-13**) es un análogo estructural del tirosinil-tRNA. La puromicina se incorpora por medio del sitio A en el ribosoma hacia la posición carboxilo terminal de un péptido, pero causa la liberación prematura del polipéptido. La puromicina, como un análogo del tirosinil-tRNA, inhibe con eficacia la síntesis de proteína tanto en procariotas como en eucariotas. La cicloheximida inhibe la peptidil transferasa en la subunidad ribosómica 60S en eucariotas, probablemente al unirse a un componente de rRNA.

FIGURA 37-13 Las estructuras comparativas del antibiótico puromicina (arriba) y la porción 3′ terminal del tirosinil-tRNA (abajo).

La **toxina diftérica**, una exotoxina de *Corynebacterium diphtheriae* infectada por un fago lisogénico específico, cataliza la ADP-ribosilación de EF-2 en el aminoácido diftamida único en células de mamífero. Esta modificación desactiva a EF-2 y, así, inhibe la síntesis de proteína de mamífero. Muchos animales (p. ej., los ratones) son resistentes a la toxina diftérica. Esta resistencia se debe a incapacidad de dicha toxina para cruzar la membrana celular, más que a insensibilidad del EF-2 de ratón a la ADP-ribosilación por NAD catalizada por la toxina diftérica.

La ricina, una molécula en extremo tóxica que se aísla a partir del ricino, desactiva el RNA ribosómico 28S eucariótico al proporcionar la división N-glucolítica o eliminación de una adenina única.

Muchos de estos compuestos —la puromicina y cicloheximida en particular— carecen de utilidad clínica, pero han tenido importancia en la dilucidación de la participación de la síntesis de proteína en la regulación de procesos metabólicos, en particular inducción de enzima por hormonas.

RESUMEN

- El flujo de información genética sigue la secuencia DNA → RNA → proteína.
- La información genética en la región estructural de un gen se transcribe hacia una molécula de RNA, de modo que la secuencia de esta última es complementaria a la que hay en el DNA.

- El RNA ribosómico (rRNA), RNA de transferencia (tRNA) y RNA mensajero (mRNA) participan de manera directa en la síntesis de proteína.
- Los miRNA regulan la función del mRNA en el ámbito de la traducción, la estabilidad, o ambas.
- La información en el mRNA es una disposición de codones en tándem, cada uno de los cuales tiene tres nucleótidos de largo.
- El mRNA se lee de manera continua desde un codón de inicio (AUG) hasta un codón de terminación (UAA, UAG, UGA).
- El cuadro de lectura abierto, u ORF, del mRNA es la serie de codones, cada uno de los cuales especifica un cierto aminoácido, que determina la secuencia de aminoácidos precisa de la proteína.
- Las síntesis de proteína, al igual que la síntesis de DNA y RNA, sigue la polaridad 5′ a 3′ del mRNA, y puede dividirse en tres procesos: inicio, alargamiento y terminación.
- Las proteínas mutantes surgen cuando sustituciones de base única dan por resultado codones que especifican un aminoácido diferente en una posición dada, cuando un codón de parada da por resultado una proteína truncada, o cuando adiciones o deleciones de base alteran el cuadro de lectura, de modo que se leen codones diferentes.
- Diversos compuestos, entre ellos varios antibióticos, inhiben la síntesis de proteína al afectar uno o más de los pasos comprendidos en la síntesis de la misma.

REFERENCIAS

Altmann M, Linder P: Power of yeast for analysis of eukaryotic translation initiation. J Biol Chem 2010;285:31907–31912.

Beckham CJ, Parker R: P bodies, stress granules, and viral life cycles. Cell Host Microbe 2008;3:206.

Buchan JR, Parker R: Eukaryotic stress granules: the ins and outs of translation. Mol Cell 2009;36:932–941.

Crick FH, Barnett L, Brenner S, et al: The genetic code. Nature 1961;192:1227.

Hinnebusch AG: Molecular Mechanism of Scanning and Start Codon Selection in Eukaryotes. Microbiology & Molecular Biology Reviews 2011;75:434–467.

Kimball SR, Jefferson, LS: Control of translation initiation through integration of signals generated by hormones, nutrients, and exercise. J Biol Chem 2009;285:29027–29032.

Kozak M: Structural features in eukaryotic mRNAs that modulate the initiation of translation. J Biol Chem 1991;266:1986.

Liu CC, Schultz PG: Adding new chemistries to the genetic code. Annu Rev Biochem 2010;79:413–444.

Maquat LE, Tarn WY, Isken O: The pioneer round of translation: features and functions. Cell 2010;142:368–374.

Silvera D, Formenti SC, Schneider RJ: Translational control in cancer. Nat Rev Cancer 2010;10:254–266.

Sonenberg N, Hinnebusch AG: Regulation of translation initiation in eukaryotes: mechanisms and biological targets. Cell 2010;136:731–745.

Spriggs KA, Bushell M, Willis AE: Translational regulation of gene expression during conditions of cell stress. Mol Cell 2010;40:228–237.

Steitz TA, Moore PB: RNA, the first macromolecular catalyst: the ribosome is a ribozyme. Trends Biochem Sci 2003;28:411.

Wang Q, Parrish AR, Wang L: Expanding the genetic code for biological studies. Chem Biol 2009;16:323–336.

Weatherall DJ: Phenotype-genotype relationships in mogenic disease: Lessons from the thalassaemias. Nature Reviews Genetics 2001;2:245.

CAPÍTULO

38

Regulación de la expresión de gen

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar que los muchos pasos involucrados en los procesos vectoriales de la expresión de gen, que varían desde modulación dirigida del número de copias del gen, reordenamiento de gen, transcripción, a procesamiento de mRNA y transporte del mismo desde el núcleo, traducción, hasta la modificación y degradación postraduccionales de proteína, están sujetos a control regulador, tanto positivo como negativo. Los cambios de cualquiera de estos procesos, o de varios, pueden aumentar o disminuir la cantidad del producto de gen cognado, o la actividad del mismo, o ambas.
- Apreciar que los factores de transcripción de unión a DNA, proteínas que se unen a secuencias de DNA específicas y a menudo están ubicadas cerca de elementos promotores transcripcionales, pueden activar la transcripción de gen o reprimirla.
- Reconocer que los factores de transcripción de unión a DNA a menudo son proteínas modulares que están compuestas de dominios separados desde los puntos de vista estructural y funcional, que pueden controlar de manera directa o indirecta la transcripción de gen que codifica para mRNA, sea por medio de contactos con RNA polimerasa y sus cofactores, o por medio de interacciones con correguladores que modulan la estructura de nucleosoma mediante modificaciones, o desplazamiento, o ambos, covalentes.
- Entender que los eventos reguladores dirigidos por nucleosoma típicamente aumentan o disminuyen la accesibilidad del DNA subyacente como secuencias aumentadoras o promotoras, aunque la modificación de nucleosoma también puede crear nuevos sitios de unión para otros correguladores.
- Entender que los procesos de transcripción, procesamiento de RNA y exportación nuclear de RNA están acoplados.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los organismos se adaptan a cambios ambientales al alterar la expresión génica. Los mecanismos que controlan dicha expresión se han estudiado con detalle y a menudo comprenden modulación de la transcripción de gen. El control de la transcripción finalmente depende de cambios del modo de interacción de moléculas reguladoras específicas, por lo general proteínas, con diversas regiones de DNA en el gen controlado; esas interacciones pueden tener un efecto positivo o negativo sobre la transcripción. El control de la transcripción puede dar lugar a expresión de gen específica para tejido, y la regulación de gen está influida por hormonas, metales pesados y sustancias químicas. Además de controles en el ámbito de transcripción, la expresión de gen también puede ser modulada mediante ampliación de gen, reordenamiento de gen, modificaciones postranscripcionales, estabilización de RNA, control traduccional, modificación de proteína y estabilización de proteína. Muchos de los mecanismos que controlan la expresión génica se usan para responder a indicios vinculados con el desarrollo, factores de crecimiento, hormonas, agentes ambientales y fármacos terapéuticos. La disregulación de la expresión génica puede llevar a enfermedad en seres humanos. De este modo, un entendimiento molecular de estos procesos llevará a la creación de agentes que alteren mecanismos fisiopatológicos o inhiban la función o suspendan el crecimiento de organismos patogénicos.

LA EXPRESIÓN REGULADA DE GENES SE REQUIERE PARA EL DESARROLLO, LA DIFERENCIACIÓN Y LA ADAPTACIÓN

La información genética presente en cada célula somática normal de un organismo metazoario es prácticamente idéntica. Las excepciones se encuentran en las pocas células que tienen genes amplificados o reordenados para desempeñar funciones celulares especializadas, o células que han pasado por transformación oncogénica. La expresión de la información genética debe regularse durante la ontogenia y la diferenciación del organismo y sus componentes celulares. Además, para que el organismo se adapte a su ambiente y conserve energía y nutrientes, la expresión de la información genética debe ser influida por señales extrínsecas, y sólo mostrar respuesta cuando es necesario. A medida que los organismos han evolucionado, también han aparecido mecanismos reguladores más complejos que proporcionan al organismo y sus células la capacidad de respuesta necesaria para sobrevivir en un ambiente complejo. Las células de mamífero poseen alrededor de 1 000 veces más información genética que la bacteria *Escherichia coli.* Gran parte de esta información genética adicional probablemente está involucrada en la regulación de la expresión de gen durante la diferenciación de tejidos y procesos biológicos en el organismo multicelular, y en el aseguramiento de que el organismo pueda responder a desafíos ambientales complejos.

En términos simples, sólo hay dos tipos de regulación de gen: **positiva** y **negativa** (**cuadro 38-1**). Cuando un elemento regulador específico aumenta de manera cuantitativa la expresión de la información genética, se dice que la regulación es positiva; cuando la presencia de un elemento regulador específico disminuye la expresión de la información genética, se considera que la regulación es negativa. El elemento o la molécula que media la regulación negativa se llama regulador negativo, **silenciador** o **represor**; y el que media regulación positiva es un **regulador positivo** o **activador**; sin embargo, un **doble negativo** tiene el efecto de actuar como un positivo. Así, un efector que inhibe la función de un regulador negativo parecerá desencadenar una regulación positiva.

Muchos sistemas regulados que parecen ser inducidos, en realidad son **desreprimidos** en el ámbito molecular. (Estos términos se explican en el cap. 9.)

CUADRO 38–1 Efectos de la regulación positiva y negativa sobre la expresión de gen

	Índice de expresión de gen	
	Regulación negativa	**Regulación positiva**
Regulador presente	Disminuida	Aumentada
Regulador ausente	Aumentada	Disminuida

LOS SISTEMAS BIOLÓGICOS MUESTRAN TRES TIPOS DE RESPUESTAS TEMPORALES A UNA SEÑAL REGULADORA

La **figura 38-1** describe la extensión o cantidad de expresión de gen en tres tipos de respuesta temporal a una señal inductora. Una **respuesta tipo A** se caracteriza por expresión aumentada de gen, que depende de la presencia continua de la señal inductora. Cuando dicha señal se elimina, la expresión de gen disminuye hasta sus cifras basales, pero aumenta repetidas veces en respuesta a la reaparición de la señal específica. Este tipo de respuesta por lo general se observa en procariotas tras cambios repentinos de la concentración intracelular de un nutriente. También se ve en muchos organismos superiores después de exposición a inductores, como hormonas, nutrientes o factores de crecimiento (cap. 42).

Una **respuesta tipo B** muestra expresión aumentada de gen que es transitoria incluso en presencia continua de la señal reguladora. Después de que esta última señal ha terminado, y se ha permitido a la célula que se recupere, quizá se observe una se-

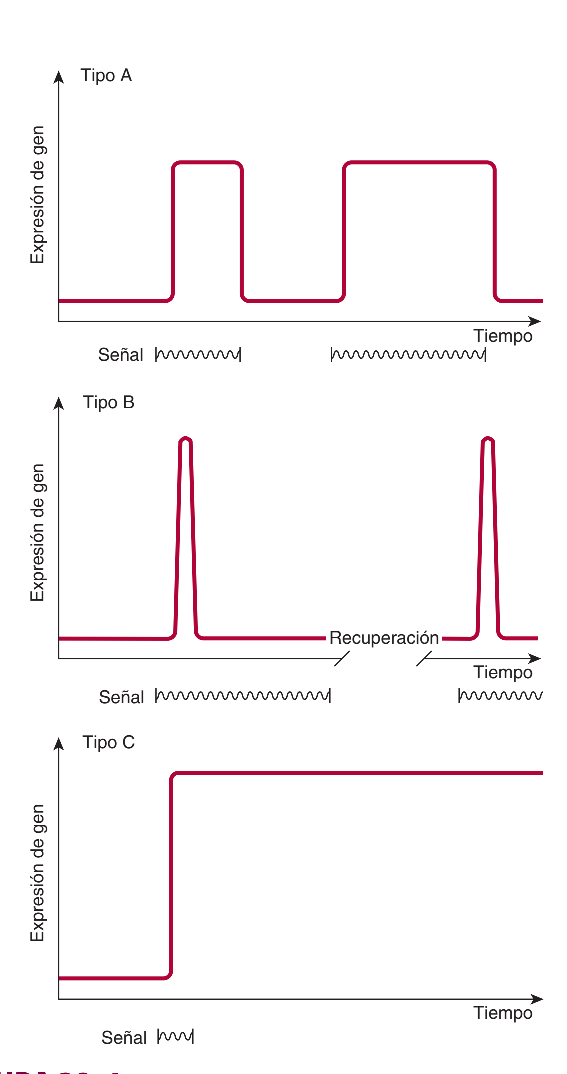


FIGURA 38–1 Representaciones esquemáticas de las respuestas de la extensión de la expresión de un gen a señales reguladoras específicas (como una hormona en función del tiempo).

gunda respuesta transitoria a una señal reguladora subsiguiente. Este fenómeno de recuperación respuesta-desensibilización caracteriza a la acción de muchos agentes farmacológicos, pero también es una característica de diversos procesos naturales. Este tipo de respuesta por lo general ocurre durante el desarrollo de un organismo, cuando sólo se requiere la aparición transitoria de un producto de gen específico aunque la señal persista.

El modelo de **respuesta tipo C** muestra una expresión de gen aumentada en respuesta a la señal reguladora que persiste por tiempo indefinido incluso después de la terminación de la señal. La señal actúa como un desencadenante en este modelo. Una vez que la expresión del gen se inicia en la célula, no puede terminarse incluso en las células hijas; por ende, es una alteración irreversible y hereditaria. Este tipo de respuesta típicamente ocurre durante el desarrollo de la función diferenciada de un tejido u órgano.

Organismos unicelulares y multicelulares sencillos sirven como modelos valiosos para el estudio de la expresión de gen en células de mamífero

El análisis de la regulación de la expresión génica en células procarióticas ayudó a establecer el principio de que la información fluye desde el gen hacia un RNA mensajero, y hacia una molécula de proteína específica. Estos estudios fueron auxiliados por los análisis genéticos avanzados que pudieron efectuarse en organismos procarióticos y en organismos eucarióticos inferiores, como la levadura de panadero, *Saccharomyces cerevisiae*, y la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, entre otros. Durante los últimos años, los principios establecidos en estos estudios, junto con diversas técnicas de biología molecular, han llevado a notorio progreso en el análisis de la regulación de gen en organismos eucarióticos superiores, incluso mamíferos. En este capítulo, la exposición inicial se centrará en sistemas procarióticos. No se describirán aquí los impresionantes estudios genéticos, pero sí se ofrecen comentarios sobre las características fisiológicas de la expresión de gen. Sin embargo, casi todas las conclusiones acerca de estas características fisiológicas se han derivado de estudios genéticos, y confirmado mediante experimentos de genética molecular y bioquímicos.

Algunas características de la expresión de gen procariótico son singulares

Antes de que puedan explicarse las características fisiológicas de la expresión de gen, es necesario definir algunos términos genéticos y reguladores especializados para sistemas procarióticos. En procariotas, los genes que participan en una vía metabólica a menudo están presentes en una disposición lineal llamada **operón**, por ejemplo, el operón *lac*. Un operón puede estar regulado por un promotor o región reguladora única. El **cistrón** es la unidad de menor tamaño de expresión genética. Algunas enzimas y otras moléculas de proteína están compuestas de dos o más subunidades no idénticas (cap. 9). De esta manera, el concepto de "un gen, una enzima" no es necesariamente válido. El cistrón es la unidad genética que codifica para la estructura de la subunidad de una molécula de proteína, y actúa como la unidad más pequeña de la expresión genética. De este modo, la idea de "un gen, una enzima" podría considerarse con mayor exactitud como un concepto de **un cistrón, una subunidad**. Un mRNA único que codifica para más de una proteína traducida por separado se denomina **mRNA policistrónico**. Por ejemplo, el mRNA operón *lac* policistrónico se traduce hacia tres proteínas separadas (véase más adelante). Los operones y los mRNA policistrónicos son comunes en bacterias, no así en eucariotas.

Un **gen inducible** es aquel cuya expresión aumenta en respuesta a un **inductor** o **activador**, una señal reguladora positiva específica. En general, los genes inducibles tienen índices de transcripción basales relativamente bajos. En contraste, los genes que tienen índices de transcripción basales altos a menudo quedan sujetos a regulación descendente por represores.

La expresión de algunos genes es **constitutiva**, lo que significa que se expresan a un índice razonablemente constante, y no se sabe que estén sujetos a regulación. A menudo reciben el nombre de **genes "de administración de la casa"** o "normalizadores" ("*housekeeping*"). Como resultado de mutación, algunos productos de gen inducibles se expresan de manera constitutiva. Una mutación que da por resultado una expresión constitutiva de lo que anteriormente era un gen regulado se denomina una **mutación constitutiva**.

El análisis del metabolismo de la lactosa en *E. coli* llevó a la hipótesis del operón

En 1961, Jacob y Monod describieron su **modelo de operón** en un artículo clásico. Su hipótesis se basó en gran parte en observaciones sobre la regulación del metabolismo de la lactosa en la bacteria intestinal *E. coli*. Los mecanismos moleculares de los cuales depende la regulación de los genes comprendidos en el metabolismo de la lactosa ahora figuran entre los mejor entendidos en cualquier organismo. La β-galactosidasa hidroliza a la β-galactósido lactosa hacia lactosa y glucosa. El gen estructural que codifica para β-galactosidasa (*lacZ*) está agrupado con los genes que se encargan de la permeación de la lactosa hacia la célula (*lacY*) y para tiogalactósido transacetilasa (*lacA*). Los genes estructurales para estas tres enzimas, junto con el promotor *lac* y el operador *lac* (una región reguladora), están físicamente asociados para constituir el **operón *lac*** (**figura 38-2**). Este ordenamiento genético de los genes estructurales y sus genes reguladores permite la **expresión coordinada** de las tres enzimas que se relacionan con el metabolismo de la lactosa. Cada uno de estos genes enlazados se transcribe hacia una molécula de mRNA policistrónico grande que contiene múltiples codones de inicio (AUG) y de parada (UAA) de la traducción independientes para

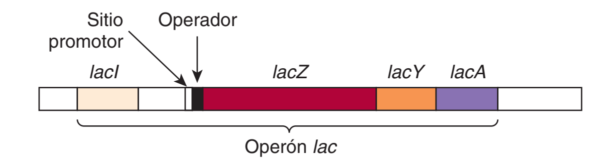


FIGURA 38–2 Las relaciones posicionales de los genes estructural y regulador del operón *lac*. *lacZ* codifica para β-galactosidasa, *lacY* codifica para una permeasa, y *lacA* codifica para una tiogalactósido transacetilasa. *lacI* codifica para la proteína represora del operón *lac*.

cada uno de estos tres cistrones. Así, cada proteína se traduce por separado, y no se procesan a partir de una proteína precursora grande única.

Ahora es convencional considerar que un gen incluye secuencias reguladoras, así como la región que codifica para la transcripción primaria. Aunque hay muchas excepciones históricas, el nombre de un gen por lo general se escribe en letras cursivas minúsculas, y la proteína codificada, cuando se abrevia, se escribe con letra tipo romano con la primera letra en mayúsculas; por ejemplo, el gen *lacI* codifica para la proteína represora LacI. Cuando *E. coli* es presentada con lactosa o con algunos análogos de lactosa específicos en condiciones no represoras apropiadas (p. ej., concentraciones altas de lactosa, medio sin glucosa o con muy poca glucosa; véase más adelante), la expresión de las actividades de la β-galactosidasa, galactósido permeasa, y tiogalactósido transacetilasa aumenta 100 a 1 000 veces; se trata de una respuesta tipo A (figura 38-1). La cinética de la inducción puede ser bastante rápida; los mRNA específicos para *lac* están por completo inducidos en el transcurso de 5 a 6 min después de la adición de lactosa a un cultivo; la concentración de proteína β-galactosidasa es máxima en el transcurso de 10 min. En condiciones por completo inducidas, puede haber hasta 5 000 moléculas de β-galactosidasa por cada célula, una cantidad unas 1 000 veces mayor que la concentración basal, no inducida. En el momento de la eliminación de la señal, esto es, el inductor, la síntesis de estas tres enzimas declina.

Cuando *E. coli* queda expuesta tanto a lactosa como a glucosa como fuentes de carbono, los organismos metabolizan primero la glucosa y después dejan de crecer temporalmente hasta que los genes del operón *lac* quedan inducidos para proporcionar la capacidad de metabolizar lactosa como una fuente de energía utilizable. Aunque la lactosa está presente desde el comienzo de la fase de crecimiento bacteriano, la célula no induce las enzimas necesarias para el catabolismo de la lactosa sino hasta que la glucosa se ha agotado. Primero se creyó que este fenómeno era atribuible a la represión del operón *lac* por algún catabolito de la glucosa; por tal motivo, se denominó represión por catabolito. Ahora se sabe que la represión por catabolito en realidad está mediada por **una proteína activadora de gen que codifica para catabolito (CAP)** de manera conjunta con **cAMP** (figura 17-5). Esta proteína también se denomina proteína reguladora de cAMP (CRP). La expresión de muchos sistemas enzimáticos inducibles u operones en *E. coli* y otros procariotas es sensible a la represión por catabolito (véase más adelante).

Las características fisiológicas de la inducción del operón *lac* se entienden bien en el ámbito molecular (**figura 38-3**). La expresión del gen *lacI* normal del operón *lac* es constitutiva; se expresa a un índice constante, y da por resultado la formación de las subunidades del **represor *lac***. Cuatro subunidades idénticas con masa molecular relativa (peso molecular) de 38 000 se montan para formar una molécula represora Lac tetramérica. La molécula de proteína represora LacI, el producto de *lacI*, tiene afinidad alta (constante de disociación, K_d de alrededor de 10^{-13} mol/L) para el ***locus* operador**, una región de DNA bicatenario con una simetría rotacional de dos pliegues y un palíndromo invertido (indicado por flechas alrededor del eje punteado) en una región que tiene 21 pares de bases de largo, como se muestra a continuación:

5′ – **AATTGT**GAGC G GATAACAATT
3′ – TTA ACACTCG C CTAT**TGTTAA**

En cualquier momento, sólo dos de las cuatro subunidades del represor parecen unirse al operador, y dentro de la región de 21 pares de bases casi cada base de cada par de bases participa en el reconocimiento de LacI y la unión al mismo. Casi toda la unión ocurre en el **surco mayor** sin interrumpir la naturaleza de doble hélice, con pares de base, del DNA operador. El ***locus* operador** está entre el **sitio promotor**, en el cual la RNA polimerasa dependiente de DNA se fija para comenzar la transcripción, y el sitio de inicio de la transcripción del **gen *lacZ***, el gen estructural que codifica para la β-galactosidasa (figura 38-2). Cuando está fija al *locus* operador, la molécula represora LacI evita la transcripción de los genes estructurales distales, *lacZ*, *lacY* y *lacA* al interferir con la unión de RNA polimerasa al promotor; la RNA polimerasa y el represor LacI no pueden unirse con eficacia al operón *lac* al mismo tiempo. De este modo, la molécula represora LacI es un **regulador negativo**; en su presencia (y en ausencia del inductor; véase más adelante), la expresión de los genes *lacZ, lacY* y *lacA* es muy, muy baja. Normalmente hay 20 a 40 moléculas tetrámero represoras en la célula, una concentración de tetrámero suficiente para que en cualquier momento dado hacer que haya >95% de ocupación del elemento operador *lac* en una bacteria, lo que asegura transcripción de gen operón *lac* basal baja (pero no de cero) en ausencia de señales inductoras.

Un análogo de la lactosa que tiene la capacidad de inducir el operón *lac*, si bien no sirve por sí mismo como un sustrato para la β-galactosidasa, es un ejemplo de un **inductor gratuito**. Un ejemplo es el isopropiltiogalactósido (IPTG). La adición de lactosa o de un inductor gratuito como IPTG a bacterias que están creciendo en una fuente de carbono poco utilizada (como succinato) da por resultado la inducción expedita de las enzimas del operón *lac*. Pequeñas cantidades del inductor gratuito o de lactosa tienen la capacidad de entrar en la célula incluso en ausencia de permeasa. Las moléculas represoras LacI —tanto las que están fijas a los *loci* operadores como las que están libres en el citosol— tienen afinidad alta por el inductor. La unión de este último a molécula represora induce un cambio de conformación en la estructura del represor, y hace que se disocie del DNA operador porque su afinidad por el operador ahora es 10^4 veces más baja (K_d de alrededor de 10^{-9} mol/L) que la de LacI en ausencia de IPTG. La RNA polimerasa dependiente de DNA ahora puede unirse al sitio promotor (figuras 36-3 y 36-8), y la transcripción empezará, aunque este proceso es relativamente ineficiente (véase más adelante). De tal manera, **un inductor "desreprime" el operón *lac***, y permite la transcripción de los genes estructurales que codifican para β-galactosidasa, galactósido permeasa y tiogalactósido transacetilasa. La traducción del mRNA policistrónico puede ocurrir incluso antes de que se complete la transcripción. La desrepresión del operón *lac* permite que la célula sintetice las enzimas necesarias para catabolizar lactosa como una fuente de energía. Con base en las características fisiológicas descritas, la expresión, inducida por IPTG, de plásmidos que fueron objeto de transfección, y que portan el operador-promotor *lac* ligado a construcciones apropiadas obtenidas mediante

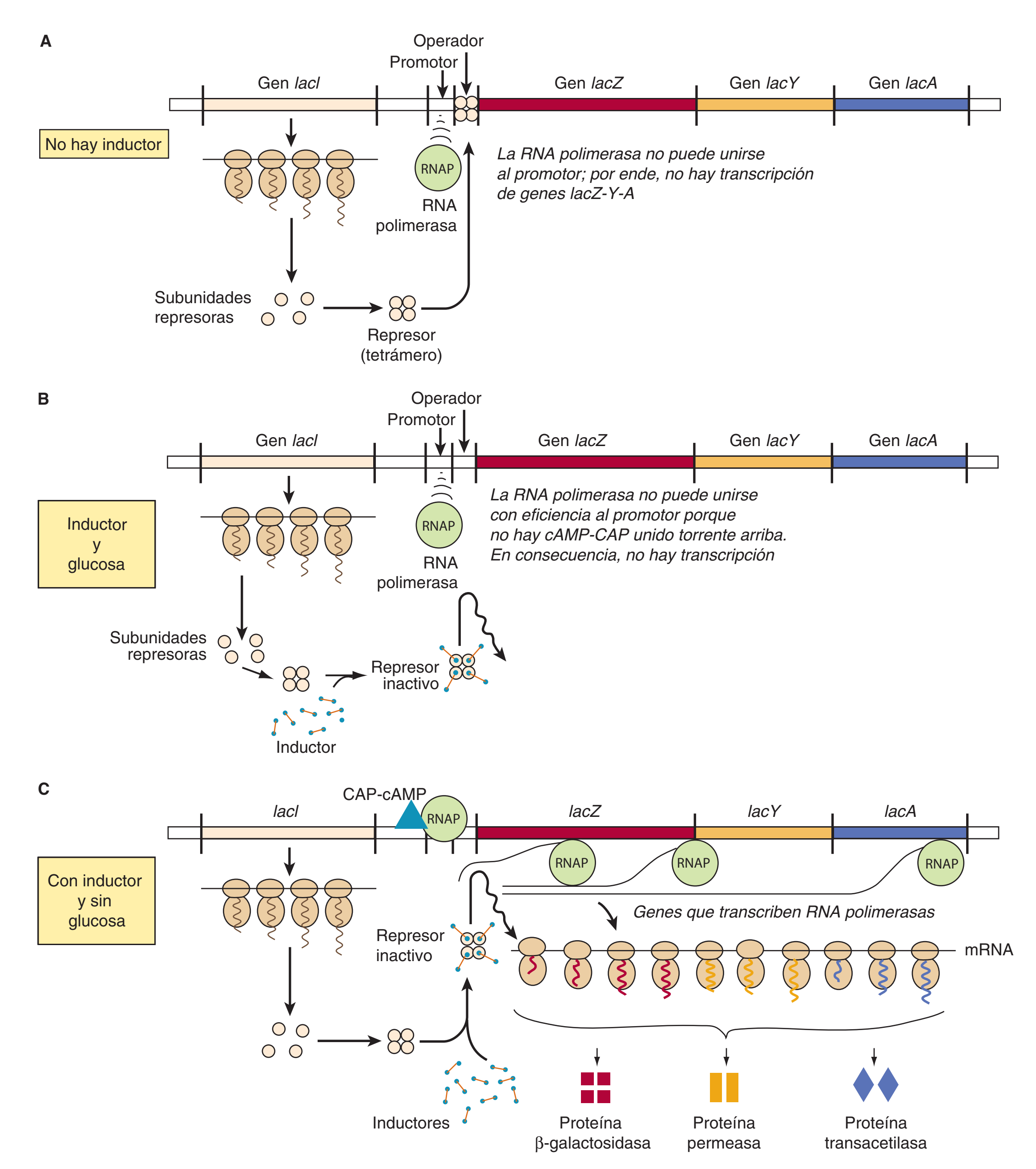


FIGURA 38–3 **El mecanismo de represión y desrepresión del operón *lac*.** En ausencia de inductor: **A)** los productos del gen *lacI* sintetizados de manera constitutiva forman una molécula tetrámero represora que se une en el *locus* operador. La unión de represor-operador evita la unión de RNA polimerasa y, en consecuencia, evita la transcripción de los genes estructurales *lacZ, lacY* y *lacA* hacia un mRNA policistrónico. Sí hay inductor, pero también hay glucosa en el medio de cultivo (**B**), el inductor altera desde el punto de vista conformacional las moléculas represoras tetraméricas, y éstas no pueden unirse con eficiencia al *locus* operador (reducción de la afinidad de unión > 1 000 veces). Empero, la RNA polimerasa no se unirá con eficiencia al promotor y no iniciará la transcripción; por ende, no se transcribe el operón. Con todo, cuando hay inductor y hay agotamiento de glucosa en el medio (**C**) la adenilil ciclasa es activada y se produce cAMP. Este cAMP se une con afinidad alta a su proteína de unión, la proteína activadora de AMP cíclico, o CRP. El complejo de cAMP-CAP se une a su secuencia de reconocimiento (CRE, el elemento de respuesta a cAMP) ubicado ~15 bp torrente arriba del promotor. Los contactos proteína-proteína directos entre el CAP unido a CRE y la RNA polimerasa aumentan >20 veces la unión de promotor; por ende, la RNAP transcribirá con eficiencia los genes estructurales *lacZ*, *lacY* y *lacA,* y la molécula de mRNA policistrónico formada puede traducirse hacia las moléculas de proteína correspondientes β-galactosidasa, permeasa y transacetilasa como se muestra, lo que permite el catabolismo de lactosa como la única fuente de carbono para el crecimiento.

procesos de bioingeniería, suele usarse para expresar proteínas recombinantes de mamífero en *E. coli.*

Para que la RNA polimerasa forme un PIC en el sitio promotor con mayor eficiencia, también debe estar presente la **CAP** a la cual el cAMP está unido. Por medio de un mecanismo independiente, la bacteria acumula cAMP sólo cuando está privada de una fuente de carbono. En presencia de glucosa —o de glicerol en concentraciones suficientes para crecer— las bacterias

carecerán de suficiente cAMP para unirse a CAP porque la glucosa inhibe a la adenilil ciclasa, la enzima que convierte ATP en cAMP (cap. 41). De esta manera, en presencia de glucosa o glicerol, no hay CAP saturada con cAMP, de modo que la RNA polimerasa dependiente de DNA no puede iniciar la transcripción del operón *lac* al índice máximo. Sin embargo, en presencia del complejo de CAP-cAMP, que se une al DNA justo torrente arriba del sitio promotor, la transcripción ocurre a niveles máximos (figura 38-3). Los estudios indican que una región de CAP entra en contacto con la subunidad α de la RNA polimerasa y estas interacciones proteína-proteína facilitan la unión de RNAP al promotor. Así, el regulador CAP-cAMP está actuando como un **regulador positivo** porque se requiere su presencia para la expresión óptima de gen. Por ende, el operón *lac* está controlado por dos factores *trans* de unión a DNA modulados por ligando, distintos; uno que actúa de manera positiva (complejo de cAMP-CRP) para facilitar la unión productiva de RNA polimerasa al promotor, y uno que actúa de manera negativa (represor LacI) que antagoniza la unión del promotor RNA polimerasa. La actividad máxima del operón *lac* ocurre cuando las concentraciones de glucosa son bajas (cAMP alto con activación de CAP) y hay lactosa (se evita que LacI se una al operador).

Cuando el gen *lacI* se ha mutado de modo que su producto, LacI, es incapaz de unirse al DNA operador, el organismo mostrará **expresión constitutiva** del operón *lac*. De una manera contraria, un organismo con una mutación del gen *lacI* que produce una proteína LacI que evita la unión de un inductor al represor, permanecerá reprimido incluso en presencia de la molécula inductora, porque el inductor no puede unirse al represor en el *locus* operador para desreprimir al operón. De modo similar, las bacterias que albergan mutaciones en su *locus* operador *lac* de modo que la secuencia operadora no se unirá a una molécula represora normal, expresan de manera constitutiva los genes que codifican para el operón *lac*. En células eucarióticas se han observado mecanismos de regulación positiva y negativa comparables a los aquí descritos para el sistema *lac* (véase más adelante).

El cambio genético del bacteriófago lambda (λ) proporciona otro paradigma para las interacciones entre proteína y DNA y regulación transcripcional en células eucarióticas

Al igual que algunos virus eucarióticos (p. ej., virus del herpes simple, HIV), algunos virus bacterianos pueden residir en un estado latente dentro de los cromosomas del huésped, o replicarse dentro del huésped bacteriano y finalmente llevar a lisis y muerte del mismo. Algunas *E. coli* albergan un virus "plantilla" de ese tipo, el bacteriófago lambda (λ). Cuando este último infecta a un organismo de esa especie, inyecta hacia la célula su genoma de DNA lineal, bicatenario, de 45 000 bp (**figura 38-4**). Según el estado nutricional de la célula, el DNA del bacteriófago lambda se **integrará** en el genoma del huésped (**vía lisogénica**) y permanecerá latente hasta que se active (véase más adelante), o empezará a **replicarse** hasta que ha hecho alrededor de 100 copias de virus completo, lleno de proteína, momento en el cual

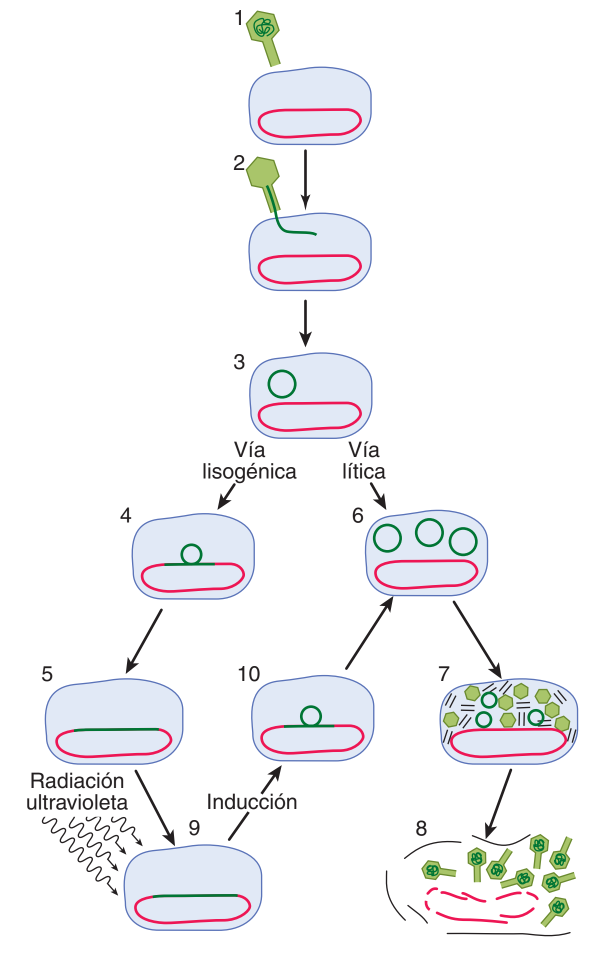


FIGURA 38–4 La infección de la bacteria *E. coli* por el fago lambda empieza cuando una partícula de virus se fija por sí misma a receptores específicos sobre la célula bacteriana (1) e inyecta su DNA (línea de color verde oscuro) hacia la célula (2, 3). La infección puede adoptar una u otra de dos vías dependiendo de cuál de los dos grupos de genes virales está activado. En la vía lisogénica, el DNA viral queda integrado en el cromosoma bacteriano (**rojo**) (**4, 5**), donde se replica de manera pasiva a medida que el DNA y la célula bacterianos se dividen. Este virus integrado latente desde el punto de vista genómico se llama profago, y la célula que lo alberga se llama lisógeno. En el modo de infección lítico alternativo, el DNA viral se replica por sí mismo (**6**) y dirige las síntesis de proteínas virales (**7**). Se forman alrededor de 100 partículas de virus nuevas. Los virus que están proliferando inducen lisis de la célula (**8**). Un profago puede ser "inducido" por un agente que daña el DNA, como la radiación ultravioleta (**9**). El agente inductor arroja un cambio, de modo que se activa un grupo diferente de genes. El DNA viral forma asas que salen del cromosoma (**10**), y se replica; el virus procede a lo largo de la vía lítica. (Reproducida, con autorización, de Ptashne M, Johnson AD, Pabo CO: A genetic switch in a bacterial virus. Sci Am [Nov] 1982;247:128.)

causa lisis de su huésped (**vía lítica**). Las partículas de virus recién generadas a continuación pueden infectar a otros huéspedes susceptibles. Las condiciones de crecimiento inadecuadas favorecen la lisogenia, mientras que las condiciones de crecimiento buenas promueven la vía lítica de crecimiento del bacteriófago lambda.

Cuando se integra en el genoma del huésped en su estado latente, el bacteriófago lambda permanecerá en ese estado en tanto no se active por exposición de su huésped bacteriano a agentes que dañan el DNA. En respuesta a ese estímulo nocivo,

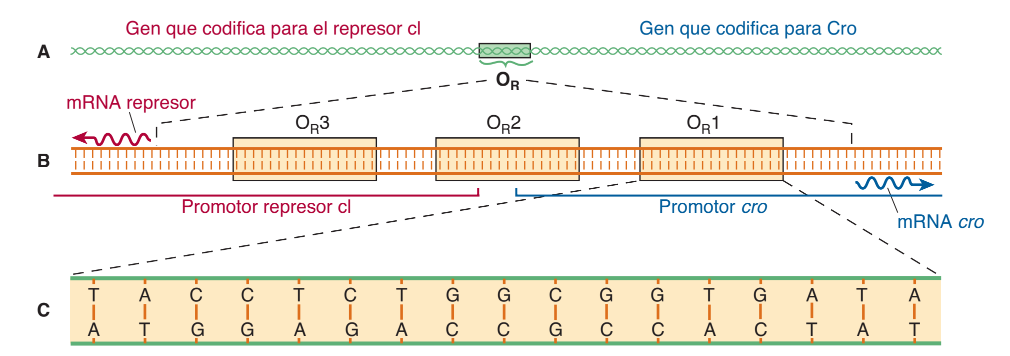


FIGURA 38–5 El operador derecho (O_R) se muestra con detalle creciente en esta serie de dibujos. El operador es una región del DNA viral de alrededor de 80 pares de base (bp) de largo (**A**). A su izquierda yace el gen que codifica para represor de lambda (cI), a su derecha está el gen *(cro)* que codifica para la proteína reguladora Cro. Cuando la región operadora se amplía (**B**), se observa que incluye tres subregiones: O_R1, O_R2 y O_R3, cada una de 17 bp de largo. Son sitios de reconocimiento a los cuales puede unirse tanto el represor como Cro. Los sitios de reconocimiento superponen dos promotores: secuencias de bases a las cuales la RNA polimerasa se une para transcribir estos genes hacia mRNA (líneas onduladas), que se traducen hacia proteína. El sitio O_R1 está ampliado (**C**) para mostrar su secuencia de base. Note que en la región O_R del cromosoma del bacteriófago lambda, ambas cadenas de DNA actúan como una plantilla para la transcripción. (Reproducida, con autorización, de Ptashne M, Johnson AD, Pabo CO: A genetic switch in a bacterial virus. Sci Am [Nov] 1982;247:128.)

el bacteriófago latente queda "inducido" y empieza a transcribir y después a traducir los genes de su propio genoma que son necesarios para su escisión desde el cromosoma huésped, su replicación de DNA, y la síntesis de su cubierta proteínica y sus enzimas líticas. Este evento actúa como una respuesta desencadenante o tipo C (figura 38-1); esto es, una vez que el bacteriófago lambda latente se ha comprometido a sí mismo a inducción, no hay regreso hasta que la célula se lisa y el bacteriófago replicado se libera. Este cambio desde un estado latente o de **profago** hacia una **infección lítica** se entiende bien en los ámbitos genético y molecular, y se describirá con detalle aquí; aunque se comprende menos bien en el ámbito molecular, el HIV y el virus del herpes pueden comportarse de manera similar.

El evento de cambio genético lítico/lisogénico en el bacteriófago lambda se centra alrededor de una región de 80 bp en su genoma de DNA bicatenario, denominada "operador derecho" (O_R) (**figura 38-5A**). El **operador derecho** está flanqueado en su lado izquierdo por el gen estructural de la proteína represora lambda, *cI,* y en su lado derecho por el gen estructural que codifica para otra proteína reguladora llamada *cro.* Cuando el bacteriófago lambda se encuentra en estado de profago —esto es, integrado en el genoma del huésped—, el gen represor *cI* es el *único* gen del mismo que se expresa. Cuando el bacteriófago lambda está pasando por crecimiento lítico, el gen represor *cI* no se expresa, pero sí se expresan el gen *cro* —así como muchos otros genes en lambda—. Es decir**, cuando el gen represor está activado, el gen *cro* se encuentra desactivado, y cuando el gen *cro* está activado, el gen represor *cI* está desactivado.** Como se verá, estos dos genes regulan la expresión uno del otro y, así, finalmente, la decisión entre crecimiento lítico y lisogénico del bacteriófago lambda. **Esta decisión entre transcripción de gen represor y transcripción de gen *cro* es un ejemplo paradigmático de un cambio transcripcional molecular**.

El operador derecho lambda de 80 bp, O_R, puede subdividirse en tres elementos de DNA *cis*-activos de 17 bp, espaciados de manera uniforme, separados, que representan los sitios de unión de una u otra de dos proteínas reguladoras de bacteriófago lambda. Es importante que las secuencias de nucleótido de estos tres sitios dispuestos en tándem son similares, mas no idénticas (**figura 38-5B**). Los tres elementos *cis* relacionados, llamados operadores O_R1, O_R2 y O_R3, pueden ser unidos por proteínas cI o Cro. Sin embargo, las afinidades relativas de cI y Cro por cada uno de los sitios varían, y esta afinidad de unión diferencial es fundamental para la operación apropiada del "cambio molecular" lítico o lisogénico del fago lambda. La región de DNA entre los genes *cro* y represor también contiene dos secuencias promotoras que dirigen la unión de RNA polimerasa en una orientación especificada, donde comienza a transcribir genes adyacentes. Un promotor dirige a la RNA polimerasa para que transcriba **hacia la derecha** y, así, para que transcriba *cro* y otros genes distales, mientras que el otro promotor dirige la transcripción del gen **represor *cI* hacia la izquierda** (figura 38-5B).

El producto del gen represor, la **proteína represora** *cI* de 27 kDa y 236 aminoácidos, existe como una molécula de **dos dominios** en la cual el **dominio amino terminal se une al DNA operador**, y el **dominio carboxilo terminal promueve la asociación** de una proteína represora con otra para formar un dímero. Un **dímero** de moléculas represoras se une a **DNA operador** de manera mucho más estrecha que la forma monomérica (**figura 38-6A** a **38-6C**).

El producto del gen *cro*, la **proteína Cro** de 9 kDa y 66 aminoácidos, tiene un dominio único pero también se une al DNA operador de manera más estrecha que un **dímero** (**figura 38-6D**). El dominio único de la proteína Cro media tanto la unión a operador como la dimerización.

En una bacteria lisogénica —esto es, una bacteria que contiene un profago lambda latente integrado—, el dímero represor de lambda se une **de preferencia a O_R1**, pero al hacerlo, mediante una interacción cooperativa, aumenta la unión (por un factor de 10) de otro dímero represor a O_R2 (**figura 38-7**). La afinidad del represor por O_R3 es la menor de las tres subregiones

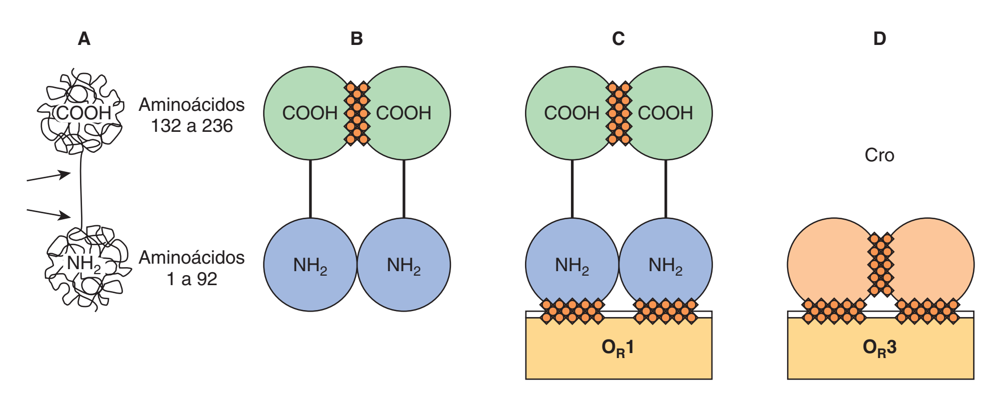


FIGURA 38–6 Estructuras moleculares esquemáticas de cI (represor lambda, mostrado en A, B y C) y Cro (D). La proteína represora lambda es una cadena polipeptídica de 236 aminoácidos de largo. La cadena se pliega por sí misma hacia una forma en pesa con dos subestructuras: un dominio amino terminal (NH_2) y un dominio carboxilo terminal (COOH). Los dos dominios están enlazados mediante una región de la cadena que está menos estructurada y es susceptible a división por proteasas (indicado por las dos flechas en **A**). Moléculas represoras únicas (monómeros) tienden a asociarse de manera reversible para formar dímeros. **B)** Un dímero es mantenido junto principalmente por contacto entre los dominios carboxilo terminal (eclosión [*hatching*]). Los dímeros represores se unen a los sitios de reconocimiento en la región operadora (y pueden disociarse de los mismos); muestran afinidades diferenciales por los tres sitios operadores, $O_R1 > O_R2 > O_R3$ (**C**). Es el dominio de unión a DNA (DBD) de la molécula represora el que hace contacto con el DNA (eclosión). Cro (**D**) tiene un dominio único con sitios que promueven la dimerización y otros sitios que promueven la unión de dímeros al operador, cro muestra la afinidad más alta por O_R3, opuesto a la preferencia de unión a secuencia de la proteína cI. (Reproducida, con autorización, de Ptashne M, Johnson AD, Pabo CO: A genetic switch in a bacterial virus. Sci Am [Nov] 1982;247:128.)

operadoras. La unión del represor a O_R1 tiene dos efectos importantes. La ocupación de O_R1 por represor **bloquea la unión de la RNA polimerasa al promotor hacia la derecha**, y de esa manera evita la expresión de *cro*. En segundo lugar, como se mencionó, el dímero represor unido a O_R1 aumenta la unión del dímero represor a O_R2. La unión del represor a O_R2 tiene el importante efecto adicional de **aumentar la unión de la RNA polimerasa al promotor hacia la izquierda** que superpone O_R3 y, así, aumenta la transcripción y la expresión subsiguiente del gen represor. Este aumento de la transcripción está mediado por interacciones directas entre una proteína y otra, entre RNA polimerasa unida a promotor y el represor unido a O_R2, de una manera muy similar a la antes descrita para la proteína CAP y la RNA polimerasa en el operón *lac*. De este modo, el represor lambda es tanto un **regulador negativo**, al evitar la transcripción de *cro*, como un **regulador positivo**, al aumentar la transcripción de su propio gen, *cI*. Este efecto doble del represor es la causa del estado estable del bacteriófago lambda latente; el represor no sólo evita la expresión de los genes necesarios para lisis, sino que también promueve la expresión de sí mismo para estabilizar este estado de diferenciación. Si la concentración intracelular de proteína represora se hace demasiado alta, este represor excesivo se unirá a O_R3, y al hacerlo disminuye la transcripción del gen represor desde el promotor hacia la izquierda bloqueando la unión de RNAP al promotor cI, hasta que la concentración de represor decrece y el represor se disocia por sí mismo de O_R3. Despierta interés que en eucariotas se han observado ejemplos similares de proteínas represoras que también tienen la capacidad de activar la transcripción.

Con ese estado lisogénico, mediado por cI, represivo, estable, podría preguntarse de qué modo alguna vez se podría entrar al sitio lítico; sin embargo, este proceso ocurre con bastante eficiencia. Cuando una señal de daño del DNA, como luz ultravioleta, golpea la bacteria huésped lisogénica, se generan fragmentos de DNA monocatenario que activan una **co-proteasa** específica codificada por un gen bacteriano y denominada *recA* (figura 38-7). La proteasa recA activada hidroliza la porción de la proteína represora que conecta los dominios amino terminal y carboxilo terminal de esa molécula (figura 38-6A). Esa división de los dominios represores hace que los **dímeros represores se disocien** lo que, a su vez, causa **disociación de las moléculas represoras desde O_R2**, y finalmente desde O_R1. Los efectos de la eliminación de receptor desde O_R1 y O_R2 son predecibles. La RNA polimerasa inmediatamente tiene acceso al promotor hacia la derecha, y comienza a transcribir el **gen *cro***, y se pierde el efecto aumentador del represor en O_R2 en la transcripción hacia la izquierda (figura 38-7).

La proteína Cro recién sintetizada resultante también se une a la región del operador como un dímero, pero este orden de preferencia es opuesto al del represor (figura 38-7). Es decir, **Cro se une de manera más estrecha a O_R3**, pero no hay efecto cooperador de O_R3 sobre la unión de Cro a O_R2. A concentraciones cada vez más altas de Cro, la proteína se unirá a O_R2 y finalmente a O_R1.

La ocupación de O_R3 por Cro desactiva de inmediato la transcripción desde el promotor *cI* hacia la izquierda, y de esa manera **evita cualquier expresión adicional del gen represor**. De esta manera, el cambio molecular se "arroja" por completo en la dirección lítica. El gen *cro* ahora se expresa, y el gen represor se desactiva por completo; este evento es irreversible, y la expresión de otros genes del bacteriófago lambda empieza como parte del ciclo lítico. Cuando la concentración de represor Cro se hace bastante alta, finalmente ocupará O_R1 y al hacerlo reduce

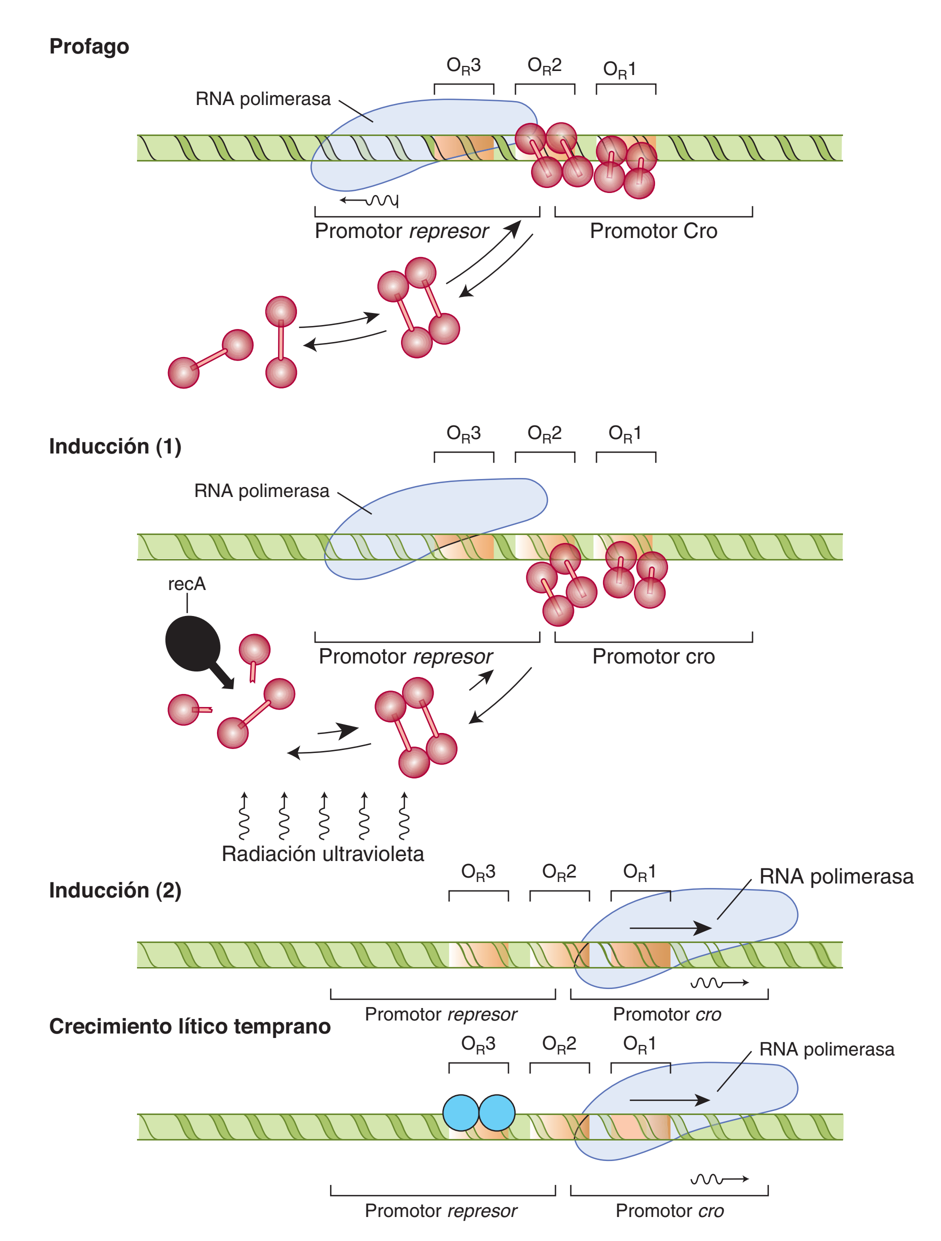


FIGURA 38–7 La configuración del cambio lítico/lisogénico se muestra en las cuatro etapas del ciclo de vida del bacteriófago lambda. La vía lisogénica (en la cual el virus permanece latente como un profago) se selecciona cuando un dímero represor se une a O_R1, lo que hace que sea probable que O_R2 sea llenado de inmediato por otro dímero. En el profago (**arriba**), los dímeros represores unidos en O_R1 y O_R2 evitan que la RNA polimerasa se una al promotor hacia la derecha y, así, bloquea la síntesis de Cro (control negativo). Los represores también aumentan la unión de polimerasa al promotor hacia la izquierda (control positivo), con el resultado de que el gen represor se transcribe hacia RNA (línea ondulada), y se sintetiza más represor, lo que mantiene el estado lisogénico. El profago se induce (**en medio**) cuando la radiación ultravioleta activa a la proteasa recA, que divide monómeros represores. El equilibrio de monómeros libres, dímeros libres y dímeros unidos, por ello, se desvía, y los dímeros abandonan los sitios operadores. La RNA polimerasa ya no se estimula para que se una al promotor hacia la izquierda, de modo que ya no se sintetiza el represor. A medida que procede la inducción, todos los sitios operadores quedan vacantes y, así, la polimerasa puede unirse al promotor hacia la derecha, y se sintetiza Cro. Durante el crecimiento lítico temprano un dímero Cro único se une a O_R3 (círculos sombreados de azul claro), el sitio para el cual tiene la más alta afinidad. En consecuencia, la RNA polimerasa no puede unirse al promotor hacia la izquierda, pero el promotor hacia la derecha permanece accesible. La polimerasa sigue unida ahí, transcribe *cro* y otros genes líticos tempranos. Surge crecimiento lítico (**abajo**). (Reproducida, con autorización, de Ptashne M, Johnson AD, Pabo CO: A genetic switch in a bacterial virus. Sci Am [Nov] 1982;247:128.)

la expresión de su propio gen, proceso que es necesario para que se realicen las etapas finales del ciclo lítico.

Las estructuras tridimensionales de Cro y de la proteína represora lambda se han determinado mediante cristalografía con rayos X, y se han propuesto y probado modelos para su unión y para efectuar los eventos moleculares y genéticos antes descritos. Ambos se unen al DNA usando motivos de dominio de unión a DNA (DBD) de hélice-giro-hélice (véase más adelante). Hasta la fecha, este sistema proporciona, según se dice, la mejor comprensión de los eventos moleculares involucrados en la activación y represión de gen.

El análisis detallado del represor lambda llevó al importante concepto de que las proteínas reguladoras de la transcripción tienen varios dominios funcionales. Por ejemplo, el represor lamb-

da se une al DNA con alta afinidad. Los monómeros represores forman dímeros, que interactúan de manera cooperativa entre sí, y el represor interactúa con la RNA polimerasa para aumentar o bloquear la unión del promotor o la formación del complejo abierto de RNAP (figura 36-3). La interfaz de proteína-DNA y las tres interfases de proteína-proteína comprenden dominios separados y distintos de la molécula represora. Como se notará (figura 38-19), ésta es una característica compartida por casi todas las moléculas (quizá todas) que regulan la transcripción.

CARACTERÍSTICAS ESPECIALES PARTICIPAN EN LA REGULACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN DE GEN EUCARIÓTICO

Casi todo el DNA en células procarióticas está organizado en genes, y las plantillas siempre tienen el potencial de ser transcritas si se activan factores *trans* positivos y negativos apropiados. Existe una situación muy diferente en células de mamífero, en las cuales relativamente poco del DNA total está organizado hacia genes que codifican para mRNA y sus regiones reguladoras asociadas.

La función del DNA extra se está investigando de manera activa (cap. 39; el ENCODE Project). Es más importante que en células eucarióticas el DNA se encuentre extensamente plegado y aglomerado hacia el complejo de proteína-DNA llamado cromatina. Las histonas son una parte importante de este complejo, porque ambos forman estructuras conocidas como nucleosomas (cap. 35) y son también un factor importante en los mecanismos reguladores de gen (véase más adelante).

La plantilla de cromatina contribuye de manera importante al control de la transcripción de gen eucariótico

La **estructura de la cromatina** proporciona un nivel de control adicional de la transcripción de gen. Regiones grandes de cromatina son inactivas desde el punto de vista transcripcional, mientras que otras son activas o potencialmente activas (cap. 35). Con pocas excepciones, cada célula contiene el mismo conjunto de genes. El desarrollo de órganos, tejidos y células especializados, y su función en el organismo intacto, dependen de la expresión diferencial de genes.

Parte de esta expresión diferencial se logra al tener diferentes regiones de cromatina disponibles para transcripción en células de diversos tejidos. Por ejemplo, el DNA que contiene la agrupación de gen que codifica para globina β está en **cromatina "activa"** en el reticulocito, pero en **cromatina "inactiva"** en células musculares.

No se han elucidado todos los factores involucrados en la determinación de cromatina activa. La presencia de nucleosomas y de complejos de histonas y DNA (cap. 35) ciertamente proporciona una barrera contra la asociación fácil de factores de transcripción con regiones de DNA específicas. Por ende, la dinámica de la formación de la estructura de nucleosoma y de la alteración de la misma es una parte importante de la regulación de gen eucariótico.

La **modificación covalente de histona**, también llamada **código de histona**, es un determinante importante de la actividad de gen. Las histonas están sujetas a una amplia gama de modificaciones postraduccionales específicas (cuadro 35-1). Estas modificaciones son dinámicas y reversibles. La acetilación de histona y la desacetilación de la misma se entienden mejor. El sorprendente descubrimiento de que la histona acetilasa y otras actividades enzimáticas están asociadas con los correguladores involucrados en la regulación de la transcripción de gen (capítulo 42) ha proporcionado un nuevo concepto de regulación de gen. Se sabe que ocurre acetilación en residuos de lisina en las colas amino terminales de moléculas de histona, y se ha correlacionado de manera constante con transcripción, o de modo alternativo con el potencial transcripcional. La acetilación de histona reduce la carga positiva de estas colas, y probablemente contribuye a un decremento de la afinidad de unión de histona por el DNA que tiene carga negativa. Esa modificación covalente de las histonas crea nuevos sitios de unión para proteínas adicionales como complejos remodeladores de cromatina dependientes de ATP, que contienen subunidades que portan dominios estructurales que se unen de manera específica a histonas que han quedado sujetas a modificaciones postraduccionales (PTM) depositadas por correguladores. Estos complejos pueden aumentar la accesibilidad de secuencias de DNA adyacentes al eliminar histonas nucleosomales. Los correguladores (modificadores de cromatina y remodeladores de cromatina), al trabajar de manera conjunta, pueden abrir regiones promotoras y reguladoras de gen, lo que facilita la unión de otros factores *trans* y RNA polimerasa II y GTF (figuras 36-10 y 36-11). La desacetilación de histona catalizada por correpresores transcripcionales tendría el efecto opuesto. Diferentes proteínas con actividades de acetilasa y desacetilasa específicas están asociadas con diversos componentes del aparato de transcripción. Las proteínas que catalizan las PTM de histona a veces se denominan "**redactores de código**", mientras que las proteínas que reconocen estas PTM de histona, se unen a las mismas y las interpretan se llaman "**lectoras de código**", y las enzimas que eliminan PTM de histona se llaman "**borradoras de código**". Entonces, en conjunto, PTM de histona representan una fuente de información reguladora en potencia rica en información, muy dinámica. Se están investigando las reglas y los mecanismos exactos que definen la especificidad de estos diversos procesos. En el capítulo 42 se ilustran algunos ejemplos específicos. Varias empresas comerciales están trabajando para desarrollar fármacos que alteren de manera específica la capacidad de las proteínas que modulan el código de histona.

Hay evidencia de que la **metilación de residuos desoxicitidina** (en la secuencia 5′-^{me}CpG-3′) en el DNA puede efectuar cambios en la cromatina, de modo que impide su transcripción activa (cap. 35). Por ejemplo, en el hígado de ratón, sólo pueden expresarse los genes ribosómicos no metilados, y hay evidencia de que muchos virus de animales no se transcriben cuando su DNA está metilado. La desmetilación aguda de residuos 5MeC en regiones específicas de genes inducibles que codifican para hormona esteroide se ha relacionado con un índice aumentado de transcripción del gen. Sin embargo, aún es imposible generalizar que el DNA metilado es inactivo desde el punto de vista transcripcional, que toda la cromatina inactiva está metilada, o que el DNA activo no está metilado.

Por último, la unión de factores de transcripción específicos a elementos de DNA cognados puede dar por resultado alteración de la estructura nucleosómica. Muchos genes eucarióticos tienen múltiples elementos de DNA de unión a proteína. La unión seriada de factores de transcripción a estos elementos —de un modo combinacional— puede alterar de manera directa la estructura del nucleosoma, evitar que vuelva a formarse, o reclutar, por medio de interacciones entre una proteína y otra, complejos correguladores de múltiples proteínas que tienen la capacidad para modificar o remodelar de manera covalente nucleosomas. Estas reacciones dan por resultado cambios estructurales en el ámbito de cromatina, que al final aumentan la accesibilidad del DNA a otros factores y a la maquinaria de transcripción (compárese con lo ya señalado).

El DNA eucariótico, que se encuentra en una región "activa" de cromatina, se puede transcribir. Al igual que en células procarióticas, un **promotor** dicta dónde iniciará la transcripción la RNA polimerasa, pero el promotor en células de mamífero (cap. 36) es más complejo. Además, los factores de acción *trans* por lo general provienen de otros cromosomas (y, así, actúan en *trans*), mientras que esta consideración es discutible en el caso de las células procarióticas que contienen un solo cromosoma. Se añade más complejidad por elementos o factores que aumentan o reprimen la transcripción, definen la expresión específica para tejido, y modulan las acciones de muchas moléculas efectoras. Por último, resultados recientes sugieren que la activación y represión de gen podrían ocurrir cuando genes particulares se movilizan hacia dentro o fuera de diferentes compartimientos o ubicaciones subnucleares.

Los mecanismos epigenéticos contribuyen de manera importante al control de la transcripción de gen

Las moléculas y la biología reguladora antes descritas contribuyen de manera importante a la regulación de la transcripción. De hecho, durante los años recientes el papel de la modificación covalente de DNA y proteínas histona y no histona, y los ncRNA recién descubiertos han recibido tremenda atención en el campo de la investigación sobre la regulación de gen, en particular por medio de investigación sobre cómo esas modificaciones químicas, o moléculas, o ambas, alteran de manera estable patrones de expresión génica sin alterar la secuencia de gen de DNA subyacente. Este campo de estudio se ha llamado **epigenética**. Un aspecto de estos mecanismos, las PTM de histonas, se ha denominado **código de histona** o código epigenético de histona (cap. 35). El término "epigenética" significa "por arriba de la genética" y se refiere al hecho de que estos mecanismos reguladores no cambian la secuencia de DNA regulada subyacente, sino más bien simplifican los patrones de expresión de este DNA. Los mecanismos epigenéticos desempeñan papeles clave en el establecimiento, el mantenimiento y la reversibilidad de estados transcripcionales. Una característica clave de los mecanismos epigenéticos es que los estados transcripcionales activados/desactivados controlados pueden mantenerse por medio de múltiples rondas de división celular. Esta observación indica que debe haber mecanismos robustos para mantener estos estados epigenéticos y propagarlos de manera estable.

Pueden describirse dos formas de señales epigenéticas, señales epigenéticas *cis* y *trans*; éstas se ilustran de manera esquemática en la **figura 38-8**. En la figura 38-8A se presenta un evento de emisión de señal *trans* sencillo compuesto de retroacción transcripcional positiva mediada por un transactivador difusible abundante que se divide entre las células progenitora e hija en cada división. En tanto el factor de transcripción indicado es expresado a una magnitud suficiente para permitir que todas las células hija subsiguientes hereden la señal epigenética *trans* (factor de transcripción), esas células tendrán el fenotipo celular o molecular dictado por los otros genes blanco de este activador transcripcional. En la figura 38-8, panel B, se presenta un ejemplo de cómo una señal epigenética *cis* (como una marca de metilación 5MeCpG específica) puede propagarse de manera estable a las dos células hijas después de la división celular. La marca de DNA hemimetilado (esto es, sólo una de las dos cadenas de DNA es modificada por 5MeC) generada durante la replicación de DNA dirige la metilación de la cadena recién replicada mediante la acción de DNA metilasas de mantenimiento omnipresentes. Esta metilación 5MeC da lugar a que ambas cadenas hijas de DNA tengan la marca epigenética *cis* completa.

Las señales epigenéticas tanto *cis* como *trans* dan por resultado estados de expresión estables y hereditarios y, por ende, representan respuestas de expresión génica tipo C (figura 38-1). Sin embargo, tiene importancia notar que ambos estados se pueden invertir si las señales epigenéticas *trans* o *cis* se eliminan, por ejemplo, al extinguir la expresión del factor de transcripción que hace que suceda esto (señal *trans*) o al eliminar una señal epigenética *cis* de DNA (por medio de desmetilación de DNA). Se han descrito enzimas que, al menos *in vitro,* pueden eliminar tanto PTM de proteína como modificaciones de 5MeC.

La transmisión estable de estados activados/desactivados epigenéticos puede efectuarse mediante múltiples mecanismos moleculares. En la **figura 38-9** se muestran tres maneras mediante las cuales las marcas epigenéticas *cis* pueden propagarse por una ronda de replicación de DNA. El primer ejemplo de transmisión de marca epigenética involucra la propagación de marcas de 5MeC de DNA, y ocurre como se describe en la figura 38-8. El segundo ejemplo de transmisión de estado epigenético ilustra cómo una PTM de histona nucleosomal (en este ejemplo, la histona H3 trimetilada lisina K-27; H3K27me3) puede propagarse. En este ejemplo inmediatamente después de la replicación de DNA, nucleosomas tanto marcados con H3K27me3 como no marcados con H3 se vuelven a formar al azar en ambas cadenas de DNA hijas. El complejo represor polycomb 2 (PRC2), compuesto de subunidades EEDSUZ12-EZH2 y RbAP, se une al nucleosoma que contiene la marca de H3K27me3 preexistente por medio de la subunidad EED. La unión de PRC2 a esta marca de histona estimula la actividad de metilasa de la subunidad de PRC2, EZH2, lo que da lugar a la metilación local de H3 nucleosomal. Así, la metilación de histona H3 causa la transmisión completa y estable de la marca epigenética H3K27me3 a ambas cromátides. Por último, el direccionamiento específico para *locus*/secuencia de señales *cis* epigenéticas de histona nucleosomal puede lograrse mediante la acción de ncRNA (figura 38-9, panel C). Aquí un ncRNA específico interactúa con secuencias de DNA blanco, y el complejo de RNA-DNA resultante es reconocido por RBP, una proteína de unión a RNA. Entonces, probablemente por medio de una proteína adaptadora específica (A), el complejo de RNA-DNA-RBP recluta

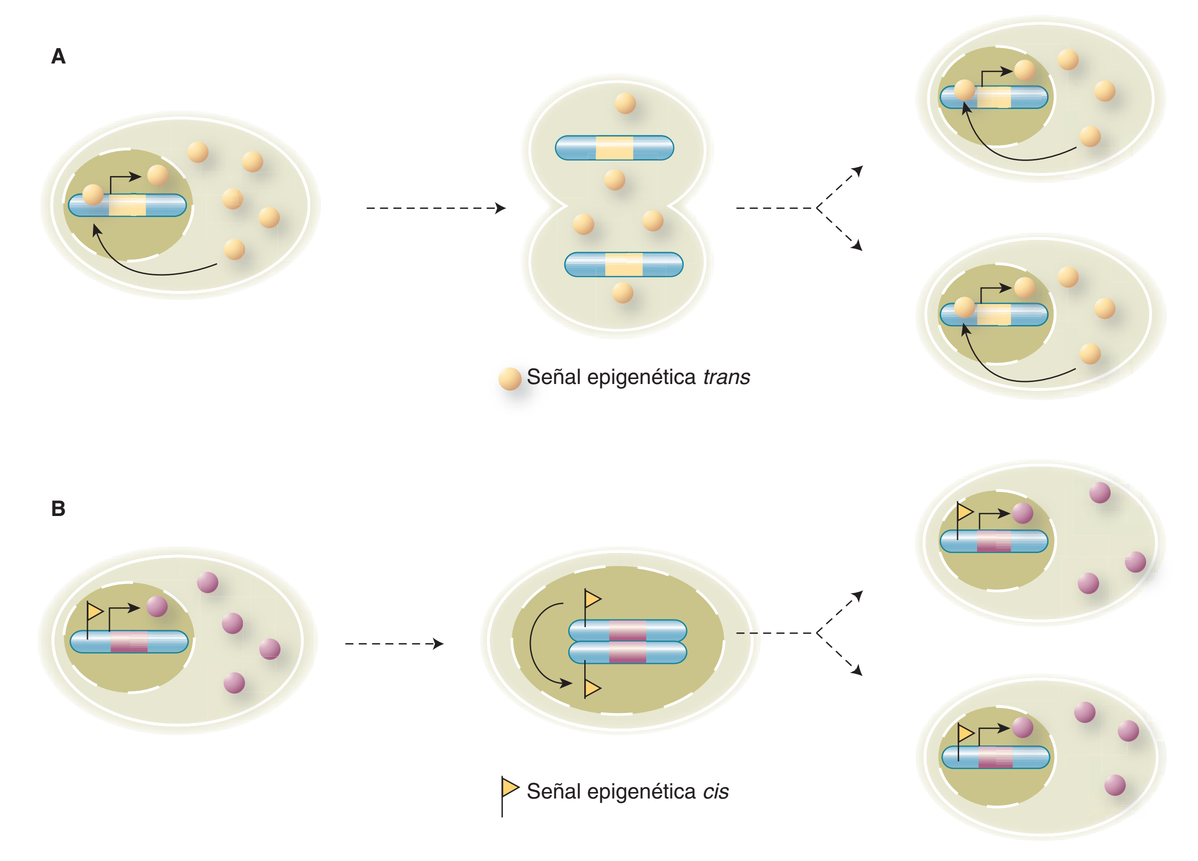


FIGURA 38–8 Señales epigenéticas *cis* y *trans*. A) Un ejemplo de una señal epigenética que actúa en *trans.* Una proteína transactivadora de unión a DNA (círculo amarillo) es transcrita a partir de su gen cognado (barra amarilla) ubicado en un cromosoma particular (azul). La proteína expresada es libremente difusible entre los compartimientos nuclear y citoplásmico. Note que el transactivador excesivo vuelve a entrar al núcleo después de la división celular, se une a su propio gen y activa la transcripción en ambas células hijas. Este ciclo vuelve a establecer el asa de retroacción positiva que estaba funcionando antes de la división celular y, así, hace que haya expresión estable de esta proteína activadora transcripcional en ambas células. **B)** Una señal epigenética *cis;* un gen (de color rosado) ubicado en un cromosoma particular (azul) porta una señal epigenética *cis* (bandera amarilla pequeña) dentro de la región reguladora torrente arriba de la unidad de transcripción de gen de color rosado. En este caso, la señal epigenética está asociada con transcripción de gen activa y producción subsiguiente de producto del gen (círculos rosados). Durante la replicación de DNA, la cromatina recién replicada sirve como una plantilla que desencadena y da forma a la introducción de la misma señal, o marca, epigenética, en la cromátide no marcada recién sintetizada. En consecuencia, ambas células hijas contienen el gen de color rosado en un estado similarmente marcado de modo epigenético *cis,* lo que asegura la expresión de una manera idéntica en ambas células. Véanse más detalles en el texto. (Imagen tomada de: Roberto Bonasio, R, Tu, S, Reinberg D (2010), "Molecular Signals of Epigenetic States". *Science* 330:612–616. Reimpresa con autorización de AAAS.)

un complejo modificador de cromatina (CMC) que modifica localmente histonas nucleosomales. De nuevo, este mecanismo lleva a la transmisión de una marca epigenética estable.

Se requerirá más investigación para establecer los detalles moleculares completos de estos procesos epigenéticos, determinar la magnitud de la omnipresencia de la operación de estos mecanismos, identificar todas las moléculas involucradas, y los genes controlados. Las señales epigenéticas tienen importancia crucial para la regulación de gen según se evidencia por el hecho de que las mutaciones o la sobreexpresión, o ambas, de muchas de las moléculas que contribuyen al control epigenético llevan a enfermedad en seres humanos.

Ciertos elementos del DNA potencian o reprimen la transcripción de genes eucarióticos

Además de cambios evidentes en la cromatina que afectan la actividad transcripcional, ciertos elementos del DNA facilitan o aumentan el inicio en el promotor y, por ende, se denominan **potenciadores. Los elementos potenciadores, que típicamente contienen múltiples sitios de unión para proteínas transactivadoras**, difieren del promotor en aspectos notables. Pueden ejercer su influencia positiva sobre la transcripción aun cuando están separados por decenas de miles de pares de bases desde un promotor; funcionan cuando están orientados en una u otra dirección, y pueden trabajar torrente arriba (5′) o abajo (3′) desde el promotor. Los potenciadores son inespecíficos, de modo que pueden estimular cualquier promotor en la vecindad y actuar sobre más de un promotor. El potenciador SV40 viral puede ejercer una influencia sobre, por ejemplo, la transcripción de la globina β al aumentar su transcripción 200 veces en células que contienen tanto el potenciador SV40 como el gen que codifica para la globina β en el mismo plásmido (véanse más adelante y la **figura 38-10**); en este caso, el potenciador SV40 del gen que codifica para globina β se construyó usando tecnología de DNA recombinante (cap. 39). El elemento potenciador no produce un producto que a su vez actúa sobre el promotor, puesto que sólo es activo cuando existe

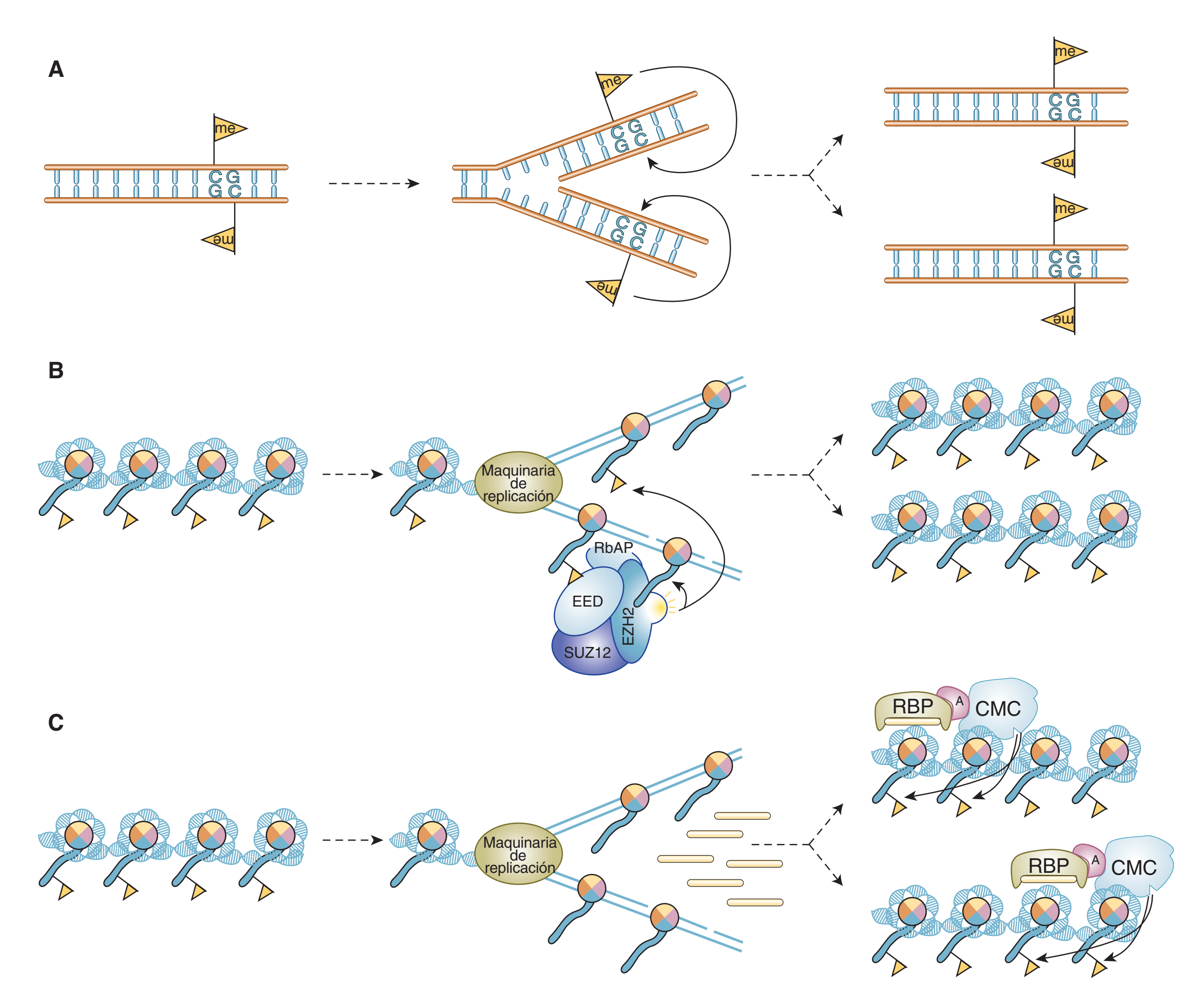


FIGURA 38–9 Mecanismos para la transmisión de señales epigenéticas, y para la propagación de las mismas, después de una ronda de replicación de DNA. A) Propagación de una señal 5MeC (bandera amarilla; figura 38-8B). **B)** Propagación de una señal epigenética de marca de PTM de histona (H3K27me) que está mediada por la acción del complejo modificador de cromatina (CMC) PRC2, una proteína de cuatro subunidades compuesta de EED, histona metilasa EZH2, RbAP y SUZ12. Note que en este contexto PRC2 es tanto una lectora de código de histona (por medio del dominio de unión a histona metilado en EED) como una redactora de código de histona (mediante el dominio SET de histona metilasa dentro de EZH2). El depósito (específico para ubicación) de la señal epigenética *cis* PTM de histona es dirigido por el reconocimiento de las marcas H3K27me en histonas nucleosomales preexistentes (bandera amarilla). **C)** Otro ejemplo de la transmisión de una señal epigenética de histona (bandera amarilla) excepto que aquí el direccionamiento de señal está mediado por la acción de ncRNA pequeños, que funcionan conjuntamente con una proteína de unión a RNA (RBP), una proteína adaptadora (A) y un CMC. Véanse más detalles en el texto. (Imagen tomada de: Roberto Bonasio, R, Tu, S, Reinberg D (2010), "Molecular Signals of Epigenetic States". *Science* 330:612-616. Reimpresa con autorización de AAAS.)

dentro de la misma molécula de DNA que (esto es, en posición *cis* a) el promotor. Las proteínas de unión potenciadoras se encargan de este efecto. Los mecanismos exactos mediante los cuales funcionan estos activadores de la transcripción están sujetos a investigación intensiva. Desde luego, se ha mostrado que los factores *trans* de unión a potenciador interactúan con muchísimas otras proteínas de transcripción. Estas interacciones comprenden coactivadores modificadores de cromatina, mediador, así como los componentes individuales de la maquinaria de transcripción de la RNA polimerasa II basal. Finalmente, los eventos de unión a DNA de factor *trans*-potenciador dan por resultado un aumento de la unión de la maquinaria de transcripción basal al promotor. Los elementos potenciadores y las proteínas de unión relacionadas a menudo transmiten hipersensibilidad a nucleasa a las regiones donde residen (cap. 35). En el **cuadro 38-2** se presenta un resumen de las propiedades de los potenciadores.

Uno de los sistemas potenciadores de mamífero que se entienden mejor es el del gen que codifica para el interferón β. Este gen se induce en el momento de infección viral de células de mamífero. Un objetivo de la célula, una vez infectada por un virus, es intentar montar una respuesta antiviral, si no para salvarse, sí para ayudar a salvar a todo el organismo contra infección por virus. La producción de interferón es un mecanismo mediante el cual se logra esto. Esta familia de proteínas se secreta por células infectadas por virus. El interferón secretado interactúa con las células vecinas para causar una inhibición de la replicación viral por diversos mecanismos, lo que limita la extensión de la infección por virus. El elemento potenciador que controla la inducción del gen que codifica para interferón β, que está localizado entre los nucleótidos −110 y −45, relativo a la transcripción del sitio de inicio (+1), se encuentra bien caracterizado; está compuesto de cuatro elementos *cis* agrupados, separados, cada

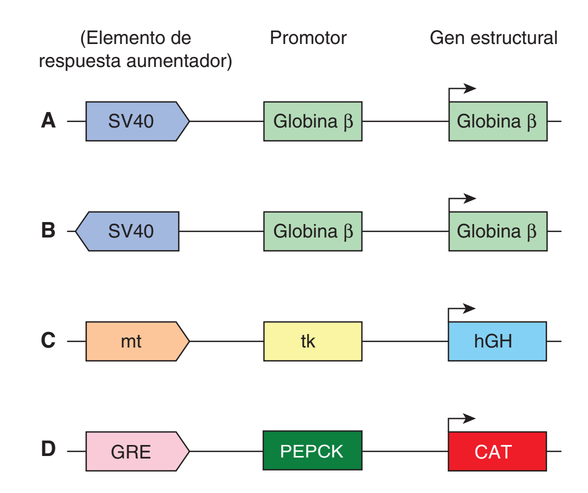


FIGURA 38–10 Ilustración esquemática de la acción de aumentadores y otros elementos reguladores de acción *cis*. Estos genes quiméricos modelo, todos construidos mediante técnicas de DNA recombinante (cap. 39) *in vitro,* constan de un gen reportero (estructural) que codifica para una proteína que se puede valorar con facilidad, y que en circunstancias normales no se produce en las células que se van a estudiar, un promotor que asegura el inicio exacto de la transcripción, y los elementos reguladores indicados. En todos los casos, la transcripción de alto nivel desde las quimeras indicadas depende de la presencia de aumentadores, que estimulan la transcripción ≥100 veces sobre las cifras transcripcionales basales (esto es, transcripción de los mismos genes quiméricos que contienen sólo promotores fusionados a los genes estructurales). Los ejemplos (**A**) y (**B**) ilustran el hecho de que los aumentadores (p. ej., SV40) trabajan en una u otra orientación y sobre un promotor heterólogo. El ejemplo (**C**) ilustra que el elemento regulador metaloproteína (mt) (que bajo la influencia del cadmio o cinc induce la transcripción del gen que codifica para mt endógeno y, por ende, la proteína mt de unión a metal) funcionará por medio del promotor timidina cinasa (tk) para aumentar la transcripción del gen que codifica para la hormona de crecimiento humana (hGH). Las construcciones genéticas producidas mediante procedimientos de ingeniería se introdujeron en los pronúcleos machos de embriones de ratón de célula única, y los embriones se colocaron en el útero de una madre subrogada para que se desarrollaran como animales transgénicos. Se ha generado descendencia en estas condiciones, y en algunos especímenes la adición de iones de cinc a su agua de bebida produce un incremento de la hormona de crecimiento hepática. En este caso, estos animales transgénicos han respondido a las cifras altas de hormona de crecimiento al hacerse dos veces más grandes que sus compañeros de camada normales. El ejemplo (**D**) ilustra que un elemento de respuesta a glucocorticoides (GRE) funcionará por medio de promotores homólogos (gen que codifica para PEPCK) o heterólogos (que no se muestran; esto es, tk) promotor, promotor SV40, promotor globina β, etc., para dirigir la expresión del gen reportero de acetiltransferasa de cloranfenicol (CAT).

uno de los cuales está unido por factores *trans* únicos. Un elemento *cis* es unido por el factor de acción *trans* NF-κB, uno por un miembro de la familia de factores *trans* IRF (factor regulador de interferón), y un tercero por el factor cremallera de leucina heterodimérico ATF-2/c-Jun (véase más adelante). El cuarto factor es el factor de transcripción estructural abundante y omnipresente conocido como HMG I(Y). En el momento de unión a sus sitios de unión degenerados, ricos en A+T, HMG I(Y) induce una flexión importante en el DNA. Hay cuatro de esos sitios de unión HMG I(Y) entremezclados en todo el potenciador. Estos sitios desempeñan una función crucial en la formación de una estructura tridimensional (3D) particular, junto con los tres factores *trans* mencionados, al inducir una serie de flexiones del DNA con espaciado crucial. En consecuencia, HMG I(Y) induce

CUADRO 38–2 Resumen de las propiedades de los potenciadores

• Funcionan cuando están localizados a grandes distancias desde el promotor
• Funcionan cuando están torrente arriba o torrente abajo desde el promotor
• Funcionan cuando están orientados en cualquier dirección
• Pueden funcionar con promotores homólogos o heterólogos
• Trabajan al unirse a una o más proteínas
• Trabajan al facilitar la unión del complejo de transcripción basal al promotor ligado a *cis*
• Trabajan al reclutar complejos correguladores modificadores de cromatina

la formación cooperativa de una estructura 3D única, estereoespecífica, dentro de la cual los cuatro factores están activos cuando la célula detecta señales de infección viral: la estructura formada por el montaje cooperativo de estos cuatro factores se denomina potenciosoma de interferón β (**figura 38-11**), así llamado debido a su obvia similitud estructural con el nucleosoma, también una estructura de proteína-DNA tridimensional singular que envuelve el DNA alrededor de un montaje de proteínas (figuras 35-1 y 35-2). El potenciosoma, una vez formado, induce un incremento grande de la transcripción de gen que codifica para interferón β en el momento de la infección por virus. No es sólo la ocupación por proteína de los sitios de elemento *cis* yuxtapuestos de manera lineal lo que induce la transcripción del gen que codifica para el interferón β; más bien, es la formación del potenciosoma propiamente dicho lo que proporciona superficies apropiadas para el reclutamiento de coactivadores y que da por resultado la formación aumentada del PIC sobre el promotor *cis*-enlazado y, así, activación de la transcripción.

También se han identificado los elementos de acción *cis* que disminuyen o **reprimen** la expresión de genes específicos. Dado que se ha estudiado un menor número de estos elementos, es imposible formular generalizaciones acerca de su mecanismo de acción, aunque, de nuevo, al igual que para la activación de gen, han quedado comprendidas modificaciones covalentes en el ámbito de cromatina, de histonas y otras proteínas, por correpresores de múltiples subunidades reclutados por represor.

La expresión específica para tejido puede depender de la acción de potenciadores o represores o una combinación de ambos elementos regulatorios de acción *cis*

Ahora se reconoce que muchos genes albergan elementos potenciadores o activadores en diversas ubicaciones respecto a sus regiones de codificación. Además de tener la capacidad de potenciar la transcripción de gen, algunos de estos elementos potenciadores poseen con claridad la capacidad para hacerlo de modo específico para tejido. Así, el elemento potenciador relacionado con los genes que codifican para inmunoglobulina entre las regiones J y C, aumenta la expresión de esos genes de preferencia en las células linfoides. De modo similar, mediante fusión de potenciadores específicos para tejido conocidos o sospechados a genes reporteros (también llamados indicado-

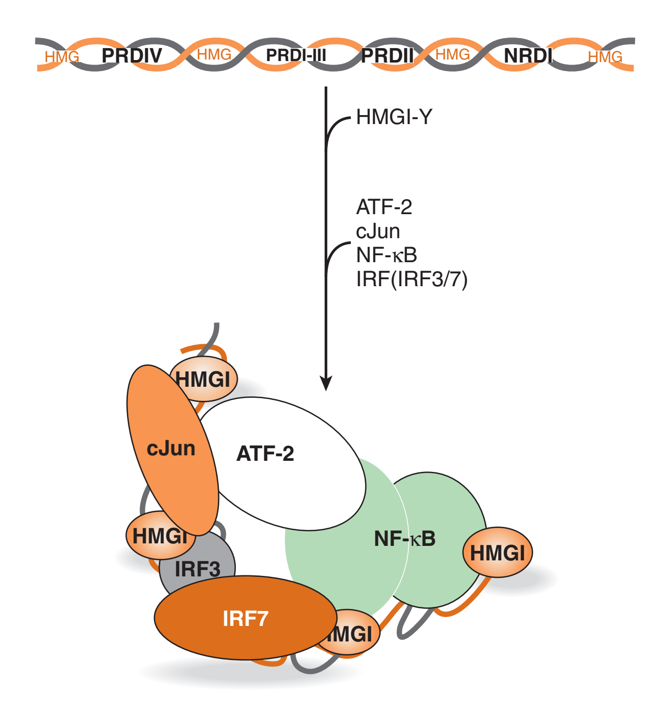


FIGURA 38–11 Formación de una estructura putativa del enhanceosoma formado en el aumentador del gen que codifica para interferón β humano. En la parte superior se representa esquemáticamente la distribución de los múltiples elementos *cis* (HMG, PRDIV, PRDI-III, PRDII, NRDI) que componen el aumentador del gen que codifica para interferón β. El aumentador intacto media la inducción transcripcional del gen que codifica para interferón β (más de 100 veces) en el momento de infección viral de células humanas. Los elementos *cis* de este aumentador modular representan los sitios de unión para los factores *trans* HMG I(Y), cJun-ATF-2, IRF3-IRF7 y NF-κB, respectivamente. Los factores interactúan con estos elementos de DNA de una manera obligatoria, ordenada, y muy cooperativa, según lo indica la flecha. La unión inicial de cuatro proteínas HMG I(Y) induce flexiones agudas del DNA en el aumentador, lo que hace que toda la región de 70 a 80 bp adopte una curvatura pronunciada. Esta curvatura es esencial para la unión muy cooperativa subsiguiente de los otros factores *trans,* porque permite que los factores de unión a DNA hagan importantes interacciones directas entre una proteína y otra que contribuyen a la formación y estabilidad del enhanceosoma y generan una superficie 3D singular que sirve para reclutar correguladores modificadores de cromatina que portan actividades enzimáticas (p. ej., Swi/Snf: ATPasa, remodelador de cromatina y P/CAF: histona acetiltransferasa), así como la maquinaria de transcripción general (RNA polimerasa II y GTF). Aunque cuatro de los cinco elementos *cis* (PRDIV, PRDI-III, PRDII, NRDI) de manera independiente pueden estimular modestamente (~10 veces) la transcripción de un gen reportero en células que fueron objeto de transfección (figuras 38-10 y 38-12), se requieren los cinco elementos *cis,* en orden apropiado, para formar un aumentador que puede estimular de manera adecuada la transcripción de gen que codifica para mRNA (esto es, ≥100 veces) en respuesta a infección viral de una célula de ser humano. Esta distinción indica el estricto requerimiento de estructura de enhanceosoma apropiada para la activación *trans* eficiente. Se propone que en muchos otros genes de mamífero se forman enhanceosomas similares, que comprenden factores *cis* y *trans* separados y correguladores.

res) y al introducir estas construcciones quiméricas de potenciador-reportero con técnicas microquirúrgicas hacia embrión unicelular, quizá se cree un animal transgénico (cap. 39), y probar de manera rigurosa si un potenciador de prueba dado en realidad impulsa la expresión de una manera específica para célula o tejido. Este método de **animal transgénico** ha resultado útil para estudiar la expresión de gen específica para tejido.

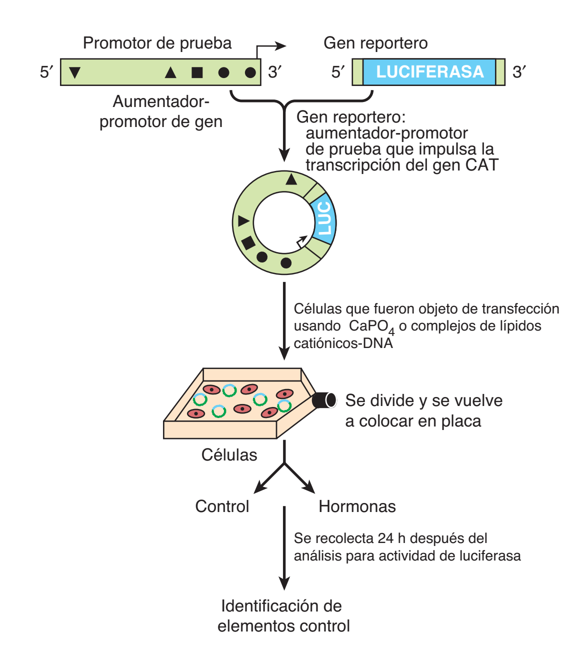


FIGURA 38–12 El uso de genes reporteros para definir elementos reguladores de DNA. Un fragmento de DNA que porta elementos *cis* reguladores (triángulos, cuadrado, círculos en el diagrama) que provienen del gen en cuestión —en este ejemplo, aproximadamente 2 kb de DNA 5′-flanqueantes y promotor cognado— es ligado hacia un vector plásmido que contiene un gen reportero idóneo —en este caso, la enzima luciferasa de luciérnaga, que se abrevia LUC—. Independientemente de cuál gen reportero se utiliza en estos experimentos, el reportero no puede estar presente en las células que fueron objeto de transfección. En consecuencia, cualquier detección de estas actividades en un extracto celular significa que la transfección de la célula por el plásmido fue exitosa. No se muestra aquí, pero típicamente se efectúa cotransfección de un reportero adicional como luciferasa de Renilla para que sirva como un control de la eficiencia de la transfección. Las condiciones de análisis para las luciferasas de luciérnaga y de Renilla son diferentes, de ahí que las dos actividades se puedan analizar de manera secuencial usando el mismo extracto celular. Por ejemplo, un aumento de la actividad de la luciferasa de luciérnaga sobre la cifra basal después de la adición de una o más hormonas, significa que la región de DNA insertada en el plásmido del gen reportero contiene elementos de respuesta a hormona (HRE) funcionales. Se pueden construir fragmentos progresivamente más cortos de DNA, regiones con deleciones internas, o regiones con mutaciones puntuales, e insertarlos para señalar con precisión el elemento de respuesta (en la figura 38-13 se presenta el mapeo de deleción de los HRE importantes).

Los genes reporteros se usan para definir elementos potenciadores y otros elementos reguladores

Al ligar regiones de DNA que se sospecha que albergan secuencias reguladoras a diversos genes reporteros (el **método del gen reportero** o **quimérico**) (**figuras 38-10**, **38-12** y **38-13**), es posible determinar cuáles regiones en la vecindad de genes estructurales tienen una influencia sobre su expresión. Fragmentos de DNA que se cree que albergan elementos reguladores se ligan a un gen reportero idóneo y se introducen a una célula huésped (figura 38-12). La expresión basal del gen reportero estará aumentada si el DNA contiene un potenciador. La adición de una hormona o un metal pesado al medio de cultivo aumentará la expresión del gen reportero si el DNA contiene un elemento de

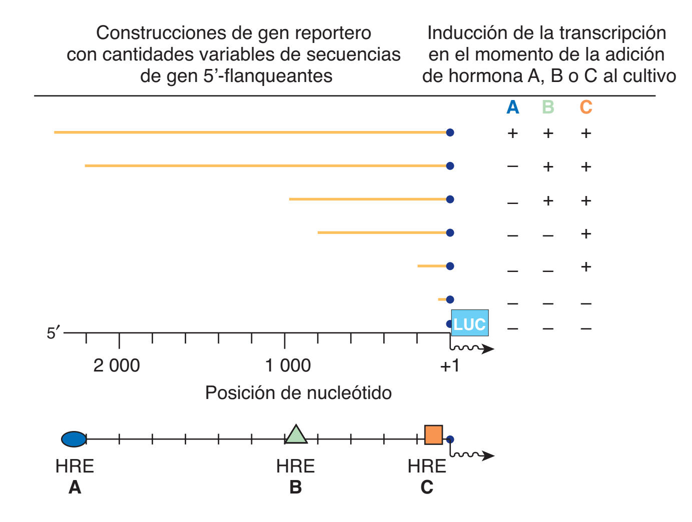


FIGURA 38–13 Mapeo de elementos de respuesta a hormona (HRE) (A), (B) y (C) usando el método de transfección de gen reportero. Una familia de genes reporteros, construidos como se describe en la figura 38-10, puede ser objeto de transfección hacia una célula receptora individualmente. Al analizar cuándo se pierden ciertas respuestas a hormona en comparación con el punto terminal de deleción de 5′, se pueden localizar elementos de respuesta a hormona específicos.

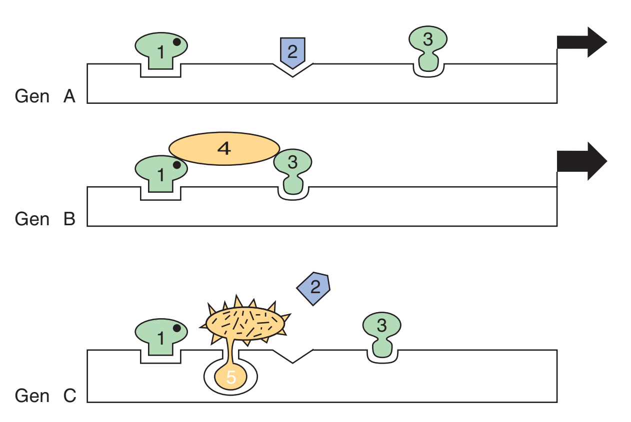


FIGURA 38–14 Combinaciones de elementos de DNA y proteína proporcionan diversidad en la respuesta de un gen. El gen A se activa (la anchura de la flecha indica la extensión) por la combinación de proteínas activadoras transcripcionales 1, 2 y 3 (probablemente con coactivadores, figura 36-10). La combinación de 1, 3 y 4 activa el gen B, en este caso con mayor eficacia; nótese que en este ejemplo el factor de transcripción 4 no entra en contacto directo con el DNA. Los activadores podrían formar un puente lineal que enlaza la maquinaria basal al promotor, o esto podría lograrse al formar asas fuera del DNA. En uno u otro caso, el propósito es dirigir la maquinaria de transcripción basal hacia el promotor. La combinación de factores de transcripción 1, 5 y 3 desactiva al gen C; en este caso, se muestra que el factor 5 impide la unión esencial del factor 2 al DNA, como ocurre en el ejemplo A. Si el activador 1 ayuda a la unión del represor 5, y si la unión del activador 1 requiere un ligando (punto negro), puede observarse de qué modo el ligando podría activar un gen en una célula (gen A) y reprimir otro (gen C) en la misma célula.

respuesta a hormona o metal (figura 38-13). La ubicación del elemento puede determinarse con precisión al usar pedazos progresivamente más cortos de DNA, deleciones o mutaciones puntuales (figura 38-13).

Esta estrategia, en la que típicamente **se usan células en cultivo que fueron objeto de transfección** (esto es, células inducidas para captar DNA exógenos), ha llevado a la identificación de cientos de potenciadores, represores, elementos específicos para tejido, y elementos de respuesta a hormona, metal pesado y fármaco. La actividad de un gen en cualquier momento refleja la interacción de estos muchos elementos de DNA de acción *cis* con sus respectivos factores de acción *trans.* El gasto transcripcional general está determinado por el balance de emisión de señales positivas y negativas hacia la maquinaria de transcripción. Ahora, el desafío es averiguar cómo ocurre esto en el ámbito molecular.

Las combinaciones de elementos de DNA y proteínas relacionadas proporcionan diversidad en las respuestas

Los genes procarióticos a menudo están regulados de una manera de activación-desactivación en respuesta a indicios ambientales simples. Algunos genes eucarióticos están regulados de la manera de activación-desactivación simple, pero en casi todos los genes, especialmente en mamíferos, el proceso es mucho más complicado. Señales que representan diversos estímulos ambientales complejos pueden converger en un gen único. La respuesta del gen a estas señales puede tener varias características fisiológicas. En primer lugar, la respuesta puede extenderse en un rango considerable; esto se logra al tener respuestas positivas aditivas y sinérgicas contraequilibradas por efectos negativos o represores. En algunos casos, la respuesta positiva o la negativa puede ser dominante. También se requiere un mecanismo por medio del cual un efector, como una hormona, puede activar a algunos genes en una célula mientras que reprime a otros, y deja a otros más no afectados. Cuando todos estos procesos se acoplan con factores de elemento específicos para tejido, se proporciona considerable flexibilidad. Es obvio que estas variables fisiológicas requieren un ordenamiento mucho más complejo que un interruptor de activación-desactivación. La gama de elementos de DNA en un promotor especifica —con factores relacionados— de qué modo un gen dado mostrará respuesta, y durante cuánto tiempo se mantiene una respuesta particular. La **figura 38-14** ilustra algunos ejemplos simples.

Los dominios de transcripción pueden definirse por regiones de control de *locus* y por aisladores

El gran número de genes en las células eucarióticas, y las disposiciones complejas de factores reguladores de la transcripción, plantean un problema organizacional. ¿Por qué algunos genes están disponibles para transcripción en una célula dada, mientras que otros no lo están? Si los potenciadores pueden regular varios genes desde distancias de decenas de kilobases, y no son dependientes de la posición ni de la orientación, ¿cómo se evita que desencadenen transcripción de todos los genes enlazados a *cis* en la vecindad? Se llega a parte de la solución a estos problemas al tener la cromatina dispuesta en unidades funcionales que restringen modelos de expresión de gen; esto puede lograrse al hacer que la cromatina forme una estructura con la matriz nuclear u otra entidad física, o compartimiento dentro del núcleo. De manera alternativa, algunas regiones están controladas por elementos de DNA complejos llamados **regiones de control de**

locus (**LCR**). Una LCR —con proteínas unidas relacionadas— controla la expresión de una agrupación de genes. La LCR mejor definida regula la expresión de la familia de genes que codifica para globina en una región grande de DNA. Los **aisladores** proporcionan otro mecanismo. Estos elementos de DNA, también en asociación con una o más proteínas, evitan que un potenciador actúe sobre un promotor en el otro lado de un aislador en otro dominio de transcripción. De este modo, los aisladores sirven como **elementos de frontera** transcripcionales.

VARIOS MOTIVOS COMPONEN LOS DOMINIOS DE UNIÓN DE DNA DE PROTEÍNAS DE FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN REGULADORAS

La especificidad comprendida en el control de la transcripción requiere que las proteínas reguladoras se unan con afinidad y especificidad altas a la región correcta de DNA. Tres motivos únicos —la **hélice-giro-hélice**, el **dedo de cinc** y la **cremallera de leucina—** explican muchas de estas interacciones específicas entre proteína y DNA. En el **cuadro 38-3** se presentan ejemplos de proteínas que contienen estos motivos.

La comparación de las actividades de unión de las proteínas que contienen estos motivos lleva a varias generalizaciones importantes.

1. La unión debe ser de alta afinidad al sitio específico, y de baja afinidad a otro DNA.
2. Regiones pequeñas de la proteína hacen contacto directo con el DNA; el resto de la proteína, además de proporcionar los dominios de activación *trans,* puede estar comprendida en la dimerización de monómeros de la proteína de unión, proporcionar una superficie de contacto para la formación de heterodímeros, proveer uno o más sitios de unión a ligando, o proporcionar superficies para interacción con coactivadores o correpresores.

CUADRO 38–3 Ejemplo de proteínas reguladoras de la transcripción con diversos motivos de unión

Motivo de unión	Organismo	Proteína reguladora
Hélice-giro-hélice	*E. coli*	Represor lac CAP
	Fago	λcI, cro, y triptófano y 434 represores
	Mamíferos	Proteínas de la homeosecuencia (homeocaja)
		Pit-1, Oct1, Oct2
Dedo de cinc	*E. coli a*	Proteína del gen 32
	Levadura	Gal 4
	Drosophila	Serendipia, Jorobado
	Xenopus	TFIIIA
	Mamíferos	Familia de receptor de esteroide, Sp1
Cremallera de leucina	Levadura	GCN4
	Mamíferos	C/EBP, fos, Jun, Fra-1, proteína de unión CRE, c-*myc*, n-*myc*, l-*myc*

3. Las interacciones entre proteína y DNA se mantienen mediante enlaces de hidrógeno, interacciones iónicas, y fuerzas de van der Waals.
4. Los motivos que se encuentran en estas proteínas son singulares; su presencia en una proteína de función desconocida sugiere que la proteína puede unirse al DNA.
5. Las proteínas con los motivos de hélice-giro-hélice o de cremallera de leucina forman dímeros, y sus sitios de unión a DNA respectivos son palíndromos simétricos. En proteínas con el motivo de dedo de cinc, el sitio de unión se repite dos a nueve veces. Estas características permiten que haya interacciones cooperativas entre sitios de unión, y aumentan el grado de unión y la afinidad de la misma.

El motivo hélice-giro-hélice

El primer motivo descrito fue la **hélice-giro-hélice**. El análisis de la estructura tridimensional (3D) del regulador de la transcripción Cro lambda ha revelado que cada monómero consta de tres hojas β antiparalelas y tres hélices α (**figura 38-15**). El dímero se forma mediante asociación de las hojas β_3 antiparalelas. Las hélices α_3 forman la superficie de reconocimiento de DNA, y el resto de la molécula parece estar involucrado en la estabilización de estas estructuras. El diámetro promedio de una hélice α es de 1.2 nm, que es la anchura aproximada del surco mayor en la forma B del DNA.

El dominio de reconocimiento de DNA de cada monómero Cro interactúa con 5 bp, y los sitios de unión a dímero abarcan 3.4 nm, lo que permite que se adapten en medios giros sucesivos del surco mayor en la misma superficie (figura 38-15). Análisis con rayos X del represor cI λ, CAP (la proteína receptora de cAMP de *E. coli*), represor de triptófano, y represor del fago 434, también despliegan esta estructura de hélice-giro-hélice dimérica que asimismo está presente en proteínas de unión a DNA eucarióticas (cuadro 38-3).

El motivo dedo de cinc

El **dedo de cinc** fue el segundo motivo de unión a DNA cuya estructura atómica se elucidó. Se supo que la actividad de la proteína TFIIIA, un regulador positivo de la transcripción del gen que codifica para RNA 5S, requería cinc. Análisis estructurales y biofísicos revelaron que cada molécula de TFIIIA contiene nueve iones de cinc en un complejo de coordinación repetitivo formado por residuos cisteína-cisteína estrechamente espaciados, seguidos por 12 a 13 aminoácidos más tarde por un par de histidina-histidina (**figura 38-16**). En algunas circunstancias —entre las que destaca la familia de receptor de hormona nuclear esteroide-tiroidea— el doblete His-His es reemplazado por un segundo par Cis-Cis. La proteína que contiene dedos de cinc parece yacer sobre una cara de la hélice de DNA, con dedos sucesivos ubicados de manera alternativa en un giro del surco mayor. Como sucede con el dominio de reconocimiento en la proteína de hélice-giro-hélice, cada dedo de cinc TFIIIA entra en contacto con alrededor de 5 bp de DNA. La importancia de este motivo en la acción de hormonas esteroides es subrayada por un "experimento de la Naturaleza". Una mutación de aminoácido único en uno u otro de los dos dedos de cinc de la pro-

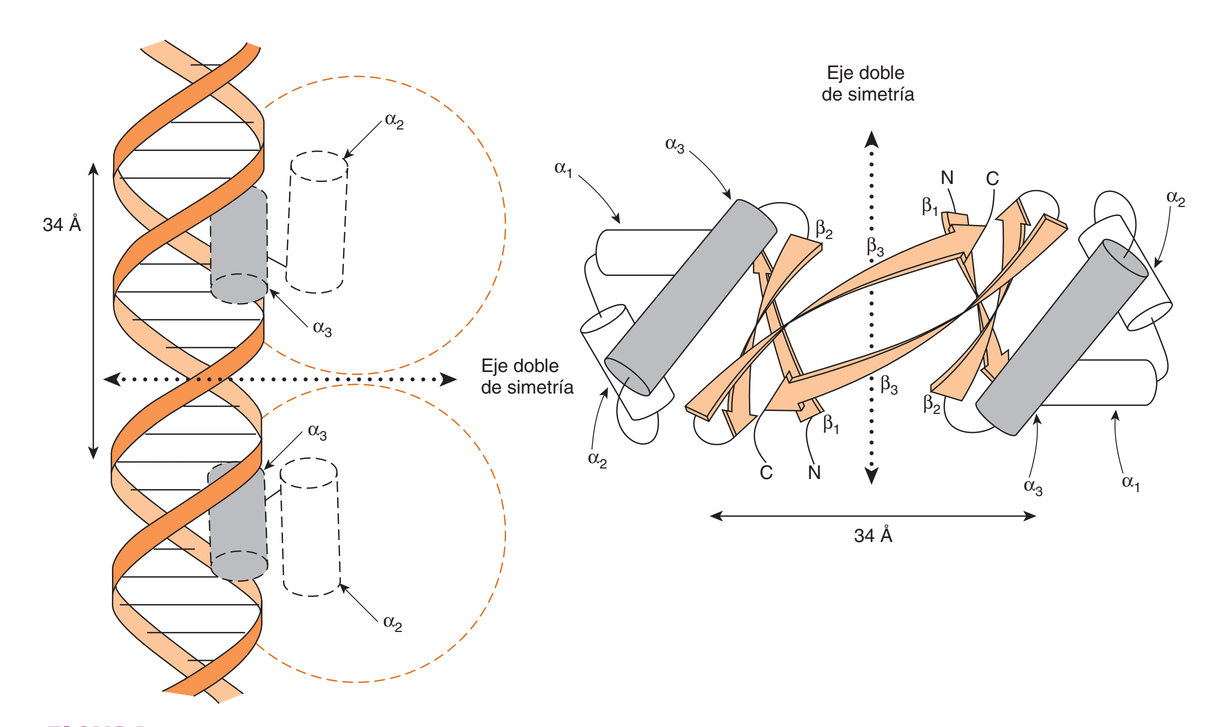


FIGURA 38–15 Representación esquemática de la estructura 3D de la proteína Cro y su unión al DNA mediante su motivo de hélice-giro-hélice (izquierda). El monómero Cro consta de tres hojas β (β_1 a β_3) y tres hélices α (α_1 a α_3), antiparalelas. El motivo hélice-giro-hélice se forma porque las hélices α_3 y α_2 se mantienen a alrededor de 90 grados entre sí mediante un giro de cuatro aminoácidos. La hélice α_3 de Cro es la superficie de reconocimiento de DNA (**sombreada**). Dos monómeros se relacionan por medio de las hojas β_3 antiparalelas para formar un dímero que tiene un eje de simetría doble (**derecha**). Un dímero Cro se une al DNA por medio de sus hélices α_3, cada una de las cuales entra en contacto con alrededor de 5 bp en la misma superficie del surco mayor (figura 38-6). La distancia entre puntos comparables en las dos hélices α del DNA es de 34 Å, que es la distancia requerida para un giro completo de la doble hélice. (Cortesía de B Mathews.)

teína receptora de 1,25$(OH)_2$-D_3 da por resultado resistencia a la acción de esta hormona, y el síndrome clínico de raquitismo.

El motivo cremallera de leucina

El análisis cuidadoso de una secuencia de 30 aminoácidos en la región carboxilo terminal de la proteína de unión potenciadora C/EBP reveló una estructura nueva, **el motivo cremallera de leucina**. Esta región de la proteína forma una hélice α en la cual hay una repetición periódica de residuos leucina en cada séptima posición (**figura 38-17**). Esto ocurre para ocho giros de hélice y cuatro repeticiones de leucina. Se han encontrado estructuras similares en varias otras proteínas relacionadas con la regulación de la transcripción en células de mamífero y de levadura. Esta estructura permite que dos monómeros idénticos o no idénticos (p. ej., Jun-Jun o Fos-Jun) se “unan con cremallera” en una espiral enrollada y que formen un complejo dimérico estrecho (figura 38-17). Esta interacción entre una proteína y otra puede servir para aumentar la asociación de los DBD separados, con su blanco (figura 38-17).

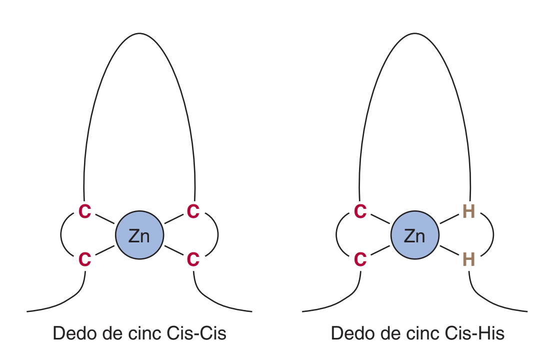


FIGURA 38–16 Los dedos de cinc son una serie de dominios repetidos (dos a nueve) en los cuales cada uno está centrado en una coordinación tetraédrica con cinc. En el caso del TFIIIA, la coordinación es proporcionada por un par de residuos cisteína (C) separados por 12 a 13 aminoácidos de un par de residuos histidina (H). En otras proteínas dedo de cinc, el segundo par también consta de residuos C. Los dedos de cinc se unen en el surco mayor; dedos adyacentes hacen contacto con 5 bp a lo largo de la misma cara de la hélice.

LOS DOMINIOS DE UNIÓN Y TRANSACTIVACIÓN DE DNA DE CASI TODAS LAS PROTEÍNAS REGULADORAS ESTÁN SEPARADOS

La unión de DNA podría dar por resultado un cambio conformacional general que permite que la proteína unida active la transcripción, o estas dos funciones podrían ser desempeñadas por dominios independientes y separados. Experimentos de intercambio de dominio sugieren que típicamente sucede esto último.

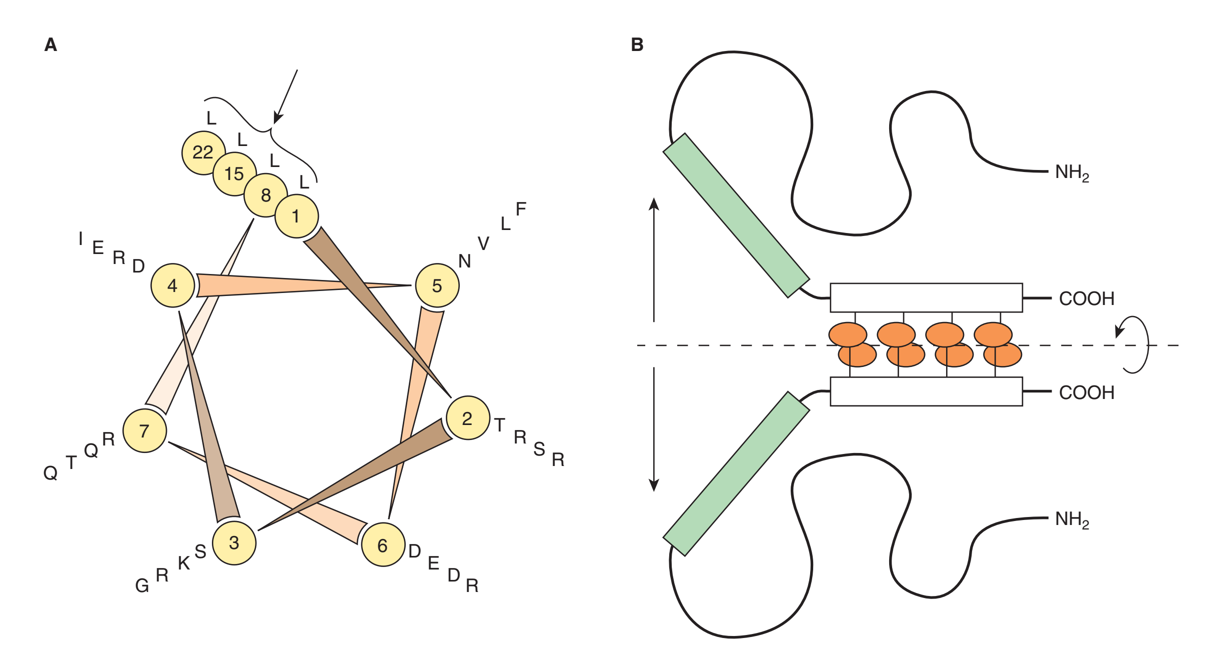


FIGURA 38-17 **El motivo de cremallera de leucina. A)** Muestra un análisis de rueda helicoidal de una porción carboxilo terminal de la proteína de unión a DNA C/EBP. La secuencia de aminoácido se despliega terminal a terminal por el eje de una hélice α esquemática. La rueda helicoidal consta de siete rayos que corresponden a los siete aminoácidos que comprenden cada dos vueltas de la hélice α. Note que los residuos leucina (L) ocurren en cada séptima posición (en esta C/EBP esquemática residuos aminoácido 1, 8, 15, 22; véase la flecha). Otras proteínas con "cremalleras de leucina" tienen un modelo en rueda helicoidal similar. **B)** Es un modelo esquemático del dominio de unión a DNA de C/EBP. Dos cadenas polipeptídicas C/EBP idénticas se mantienen en formación de dímero por el dominio de cremallera de leucina de cada polipéptido (denotado por los rectángulos y por los óvalos adosados). Esta asociación se requiere para mantener los dominios de unión a DNA de cada polipéptido (los rectángulos sombreados) en la conformación apropiada para unión a DNA. (Cortesía de S McKnight.)

El producto de gen *GAL1* participa en el metabolismo de la galactosa en levaduras. La transcripción de este gen está regulada de manera positiva por la proteína GAL4, que se une a una secuencia activadora torrente arriba (UAS), o potenciador, por medio de un dominio amino terminal. El dominio de unión a DNA (DBD) de 73 aminoácidos amino terminal de GAL4 se eliminó y fue reemplazado por el DBD de LexA, una proteína de unión a DNA de *E. coli*. Este intercambio de dominio dio por resultado una molécula que no se unió al UAS *GAL1* y, por supuesto, no activó al gen *GAL1* (**figura 38-18**). Sin embargo, si el operador *lexA* —la secuencia de DNA que normalmente es unida por el *lexA*DBD— se insertó en la región promotora del gen *GAL*, lo que reemplazó el potenciador *GAL1* normal, la proteína híbrida se unió a este promotor (en el operador *lexA*) y activó la transcripción de *GAL1*. Este experimento, que se ha repetido varias veces, proporciona evidencia sólida de que la región carboxilo terminal de GAL4 causa activación transcripcional; estos datos también demuestran que el DBD y los dominios de transactivación (AD) son independientes y no interactivos. La jerarquía comprendida en el montaje de complejos activadores de la transcripción de gen incluye proteínas que se unen al DNA y lo transactivan; otras que forman complejos proteína-proteína que forman puentes con proteínas de unión a DNA para transactivar proteínas, y otras que forman complejos proteína-proteína con componentes de correguladores o el aparato de transcripción basal. De esta manera, una proteína dada puede tener varias superficies modulares o dominios que desempeñan diferentes funciones (**figura 38-19**). El propósito primario de estos montajes de complejo es facilitar el montaje, o la actividad,

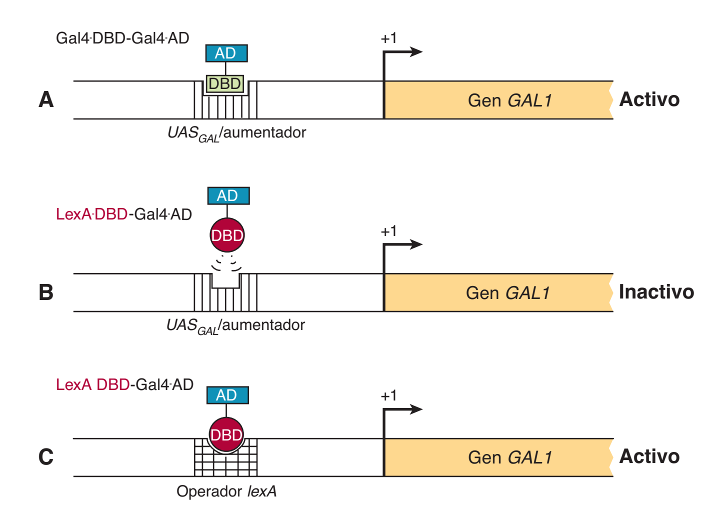


FIGURA 38–18 **Experimentos de cambio de dominio demuestran la naturaleza independiente de los dominios de unión a DNA y de activación de la transcripción.** El promotor del gen *GAL1* contiene una secuencia activadora torrente arriba (UAS) o aumentador que es unido por el factor de transcripción regulador GAL4 (**A**). GAL4, al igual que la proteína cI lambda, es modular, y contiene un DBD N terminal y un dominio de activación C terminal, o AD. Cuando el factor de transcripción GAL4 se une al aumentador *GAL1*/UAS, surge activación de la transcripción del gen *GAL1* (Activo). Una proteína quimérica, en la cual el dominio de unión a DNA (DBD) amino terminal de GAL4 es eliminado y reemplazado con el DBD de la proteína LexA de *E. coli* (LexA DBD-GAL4 AD), no estimula la transcripción de *GAL1* porque el DBD de LexA no puede unirse al aumentador GAL1/ UAS (**B**). En contraste, la proteína de fusión DBD de LexA-GAL4 AD incrementa la transcripción de *GAL1* cuando el operador *lexA* (el blanco natural para el DBD de LexA) es insertado en la región promotora *GAL1* (**C**) y reemplaza la UAS *GAL1*.

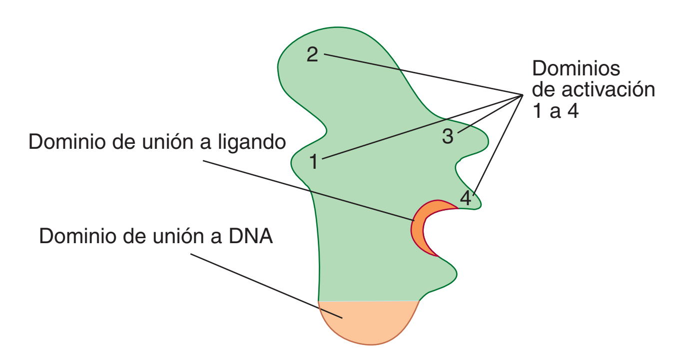


FIGURA 38–19 Las proteínas que regulan la transcripción tienen varios dominios. Este factor de transcripción hipotético tiene un dominio de unión a DNA (DBD) que es distinto de un dominio de unión a ligando (LBD) y varios dominios de activación (AD) (1 a 4). Otras proteínas pueden carecer del DBD o del LBD, y todas pueden tener números variables de dominios que entran en contacto con otras proteínas, incluso correguladores y los del complejo de transcripción basal (véanse también los caps. 41 y 42).

o ambos, del aparato de transcripción basal en el promotor *cis*-enlazado (cap. 36).

LA REGULACIÓN DE GEN EN PROCARIOTAS Y EUCARIOTAS DIFIERE EN ASPECTOS IMPORTANTES

Además de la transcripción, las células eucarióticas emplean diversos mecanismos a fin de regular la expresión de gen (**cuadro 38-4**). La membrana nuclear de células eucarióticas segrega físicamente la transcripción de gen desde la traducción, dado que los ribosomas sólo existen en el citoplasma. Participan muchos más pasos en la expresión de genes eucarióticos, especialmente en el procesamiento del RNA, que en la de genes procarióticos, y tales etapas proporcionan sitios adicionales para influencias reguladoras que no pueden existir en procariotas. Estos pasos de procesamiento del RNA en eucariotas (cap. 36) comprenden cubierta de los extremos 5′ de las transcripciones primarias, adición de una cola de poliadenilato a los extremos 3′ de transcripciones, y escisión de regiones intrón para generar exones empalmados en la molécula de mRNA maduro. Hasta la fecha, los análisis de expresión de gen eucariótico proporcionan evidencia de que ocurre regulación en el ámbito de la **transcripción, el procesamiento de RNA nuclear, la estabilidad de mRNA, y la traducción**. Además, la amplificación y el reordenamiento de gen influyen sobre la expresión de gen.

Debido al advenimiento de la tecnología de DNA recombinante, se ha progresado mucho durante los últimos años en el entendimiento de la expresión de gen eucariótico. Sin embargo, dado que la mayor parte de los organismos eucarióticos contiene mucho más información genética que los procariotas, y puesto que la manipulación de sus genes es mucho más difícil, los aspectos moleculares de la regulación de gen eucariótico se entienden menos bien que los ejemplos que se comentaron antes en este capítulo. En esta sección se describen de manera breve algunos tipos diferentes de regulación de gen eucariótico.

CUADRO 38–4 La expresión de gen está regulada por la transcripción y de muchas otras maneras en el ámbito del RNA en células eucarióticas

• Amplificación de gen
• Reordenamiento de gen
• Procesamiento de RNA
• Empalme de mRNA alternado
• Transporte de mRNA desde el núcleo hacia el citoplasma
• Regulación de la estabilidad del mRNA
• Compartimentación
• Silenciamiento y activación de miRNA/ncRNA

Los miRNA modulan la expresión de gen al alterar la función del mRNA

La clase recién descubierta de RNA pequeños eucarióticos, llamados miRNA, contribuye de manera importante al control de la expresión de gen (cap. 35). Estos RNA de ~22 nucleótidos regulan la traducibilidad de mRNA específicos al inhibir la traducción o inducir degradación del mRNA, aunque en algunos casos se ha mostrado que los miRNA estimulan la función del mRNA (traducción). Se cree que al menos una parte de la modulación de la actividad de mRNA impulsada por miRNA ocurre en el **cuerpo P** (figura 37-11). La acción de miRNA puede dar por resultado cambios notorios de la producción de proteína y, por ende, de la expresión de gen. Los miRNA han quedado implicados en muchas enfermedades de seres humanos, como enfermedad del corazón, cáncer, emaciación muscular, infección viral y diabetes.

Los miRNA, al igual que los factores de transcripción de unión a DNA descritos con detalle antes, tienen actividad *trans,* y una vez sintetizados y procesados de manera apropiada, interactúan con proteínas específicas y se unen a mRNA blanco, de forma típica en las regiones de mRNA 3′ no traducidas (figura 36-17). La unión de miRNA a blancos de mRNA está dirigida por reglas de formación de pares de bases normales. En general, si la formación de par de base de **miRNA-mRNA** tiene uno o más errores de emparejamiento, la traducción del mRNA "blanco" cognado se inhibe, mientras que si la **formación de pares de base de miRNA-mRNA** es perfecta en los 22 nucleótidos, el mRNA correspondiente se degrada.

Dada la enorme y siempre creciente importancia de los miRNA, muchos científicos y compañías de biotecnología estudian de manera activa la biogénesis, el transporte y la función de miRNA con la esperanza de curar enfermedades en seres humanos. El tiempo dirá la magnitud y universalidad de la regulación de gen mediada por miRNA. Es probable que en el futuro cercano los científicos develen la importancia médica de estos interesantes RNA pequeños.

Los genes eucarióticos se pueden amplificar o reordenar durante el desarrollo o en respuesta a fármacos

Durante el desarrollo temprano de metazoarios, hay un aumento repentino de la necesidad de moléculas específicas, como mo-

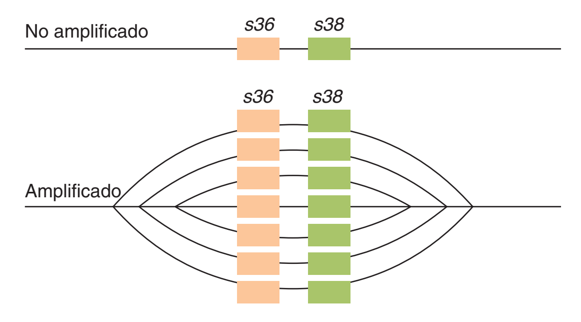


FIGURA 38–20 Representación esquemática de la amplificación de los genes que codifican para proteína del corion, *s36* y *s38*. (Reproducida, con autorización, de Chisholm R: Gene amplification during development. Trends Biochem Sci 1982;7:161. Copyright ©1982. Reimpresa con autorización de Elsevier.)

léculas de RNA ribosómico y RNA mensajero para proteínas que constituyen órganos como el cascarón de huevo. Una manera de aumentar el índice al cual pueden formarse esas moléculas es incrementar el número de genes disponibles para la transcripción de estas moléculas específicas. Entre las secuencias de DNA repetitivas dentro del genoma figuran cientos de copias de genes que codifican para RNA ribosómico. Estos genes preexisten de manera repetitiva en el DNA de los gametos y, así, se transmiten en altos números de copias de una generación a otra. En algunos organismos específicos, como la mosca de la fruta (*Drosophila*), ocurre durante la oogénesis una amplificación de algunos genes preexistentes como los que codifican para las proteínas del corion (cascarón de huevo). Después, estos genes amplificados, probablemente generados por un proceso de inicios repetidos durante la síntesis de DNA, proporcionan múltiples sitios para la transcripción de gen (**figuras 36-4** y **38-20**).

Las secuencias codificadoras de las cuales depende la generación de moléculas de proteína específicas, a menudo son no contiguas en el genoma de mamífero (cap. 36). En el caso de genes que codifican para anticuerpo, esto es en particular verdadero. Las inmunoglobulinas están compuestas de dos polipéptidos, las llamadas cadena pesada (de alrededor de 50 kDa) y ligera (de unos 25 kDa) (cap. 50). Los mRNA que codifican para estas dos subunidades proteínicas están codificados por secuencias de gen sujetas a extensos cambios de codificación de la secuencia de DNA. Estos cambios de codificación de DNA son esenciales para generar la diversidad de reconocimiento indispensable fundamental para la función inmunitaria apropiada.

Los mRNA que codifican para cadenas pesada y ligera de IgG son codificados por varios segmentos diferentes que se repiten en tándem en la línea germinal. Así, por ejemplo, la cadena ligera de IgG está compuesta de dominios o segmentos variable (V_L), de unión (J_L) y constante (C_L). Para subgrupos particulares de cadenas ligeras de IgG, hay aproximadamente 300 segmentos codificadores de gen V_L repetidos en tándem, cinco secuencias codificadoras J_L dispuestas en tándem, y alrededor de 10 segmentos codificadores de gen C_L. Todas estas regiones codificadoras múltiples, separadas, están ubicadas en la misma región del mismo cromosoma, y cada tipo de segmento codificador (V_L, J_L y C_L) se repite en tándem de manera cabeza a cola dentro de la región de repetición de segmento. Al tener múltiples segmentos V_L, J_L y C_L a partir de los cuales elegir, una célula inmunitaria tiene un repertorio mayor de secuencias con las cuales trabajar para desarrollar tanto flexibilidad como especificidad inmunitaria. Sin embargo, una unidad de transcripción de cadena ligera de IgG funcional dada —al igual que todas las otras unidades de transcripción de mamífero "normales"— sólo contiene las secuencias codificadoras para una proteína única. De este modo, antes de que pueda expresarse una cadena ligera de IgG particular, deben recombinarse secuencias codificadoras V_L, J_L y C_L *únicas* para generar una unidad de transcripción contigua, *única,* con exclusión de los múltiples segmentos no utilizados (esto es, los otros alrededor de 300 segmentos V_L, los otros cuatro segmentos J_L, y los otros nueve segmentos C_L, no usados). Esta deleción de información genética no usada se logra mediante la recombinación de DNA selectiva que elimina el DNA codificador no deseado, mientras que retiene las secuencias codificadoras requeridas: una secuencia V_L, una J_L, y una C_L. (Las secuencias V_L están sujetas a mutagénesis puntual adicional para generar aún más variabilidad —de ahí el nombre—.) De esta manera, las secuencias recién recombinadas forman una unidad de transcripción única que es competente para la transcripción mediada por RNA polimerasa II hacia un mRNA monocistrónico único. Si bien los genes IgG representan uno de los casos mejor estudiados de reordenamiento de DNA dirigido que modula la expresión genética, en la literatura médica se han descrito otros casos de reordenamiento de DNA regulador de gen. De hecho, como se detalla más adelante, la amplificación de gen inducida por fármaco es una importante complicación de la quimioterapia de cáncer.

En años recientes ha sido posible promover la amplificación de regiones genéticas específicas en células de mamífero en cultivo. En algunos casos puede lograrse un aumento de varios miles de veces del número de copias de genes específicos en un periodo que comprende dosis cada vez mayores de fármacos selectivos. De hecho, en pacientes que reciben metotrexato para cáncer se ha demostrado que las células malignas pueden adquirir **resistencia a fármaco** al aumentar el número de genes que codifican para la dihidrofolato reductasa, el blanco del metotrexato. Eventos de amplificación y deleción de gen como éstos, que involucran 10 a 1 000 000 de bp de DNA, ocurren de manera espontánea *in vivo* —es decir, en ausencia de agentes selectivos proporcionados de manera exógena— y estas rondas de replicación extra no programadas pueden llegar a estabilizarse en el genoma bajo presiones selectivas apropiadas.

El procesamiento de RNA alternativo es otro mecanismo de control

Además de afectar la eficiencia de la utilización de promotor, las células eucarióticas emplean procesamiento de RNA alternativo para controlar la expresión de gen. Esto puede ocurrir cuando se usan promotores, sitios de empalme de intrón-exón, o sitios de poliadenilación, alternativos. En ocasiones sobreviene heterogeneidad dentro de una célula, pero con mayor frecuencia la misma transcripción primaria se procesa de manera diferente en distintos tejidos. A continuación se presentan algunos ejemplos de cada uno de estos tipos de regulación.

El uso de **sitios de inicio de la transcripción alternativos** origina un exón 5′ diferente en mRNA que codifica para amilasa y cadena ligera de miosina de ratón, glucocinasa de rata, y alcohol deshidrogenasa y actina de *Drosophila*. Los **sitios de poliade-**

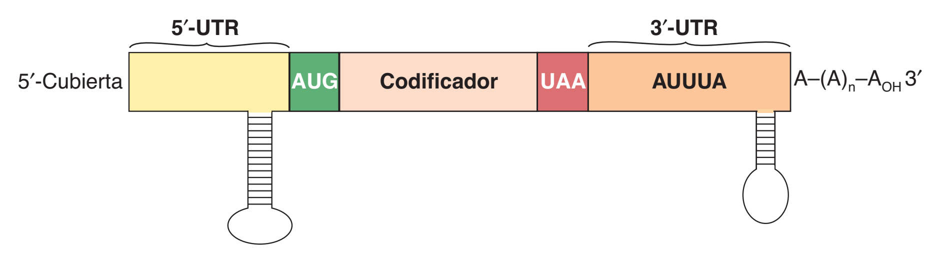


FIGURA 38–21 Estructura de un mRNA eucariótico típico que muestra elementos que están involucrados en la regulación de la estabilidad del mRNA. El mRNA eucariótico típico tiene una secuencia no codificadora (NCS), o región no traducida 5′ (5′ UTR), una región codificadora, y una región no traducida 3′ (3′ UTR). En esencia todos los mRNA están cubiertos en el extremo 5′, y casi todos tienen una secuencia poliadenilato, de 100 a 200 nucleótidos de largo en su extremo 3′. La cubierta 5′ y la cola 3′ poli(A) protegen el mRNA contra ataque por exonucleasa, y son unidos por proteínas específicas que interactúan para facilitar la traducción (figura 37-7). Se cree que las estructuras de tallo-asa en la NCS 5′ y 3′ y la región rica en AU en la NCS 3′ representan los sitios de unión para proteínas específicas que modulan la estabilidad del mRNA. Los miRNA típicamente se dirigen a secuencias blanco en la UTR 3′.

nilación alternativos en la transcripción primaria de cadena pesada de inmunoglobulina μ dan por resultado mRNA que tienen 2 700 bases (μ_m) o 2 400 bases (μ_s) de largo. Esto produce una región carboxilo terminal diferente de las proteínas codificadas, de modo que la proteína μ_m permanece fija a la membrana del linfocito B, y la inmunoglobulina μ_s se secreta. El **empalme y procesamiento alternativos** dan por resultado la formación de siete mRNA que codifican para α-tropomiosina únicos en siete tejidos diferentes. No está claro de qué modo se toman estas decisiones de procesamiento-empalme o si estos pasos se pueden regular.

La regulación de la estabilidad de RNA mensajero proporciona otro mecanismo de control

Aunque casi todos los mRNA en células de mamífero son muy estables (vida media que se mide en horas), algunos se recambian con mucha rapidez (vida media de 10 a 30 minutos). En ciertas circunstancias, la estabilidad del mRNA se encuentra sujeta a regulación, lo cual tiene inferencias importantes puesto que por lo general hay una relación directa entre la cantidad de mRNA y la traducción de ese mRNA hacia su proteína cognada. Por ende, los cambios de la estabilidad de un mRNA específico pueden tener efectos importantes sobre procesos biológicos.

Los RNA mensajeros existen en el citoplasma como partículas de ribonucleoproteína (RNP). Algunas de estas proteínas protegen al mRNA contra digestión por nucleasas, mientras que otras, en ciertas condiciones, pueden promover el ataque por nucleasa. Se cree que los mRNA se estabilizan o desestabilizan por la interacción de proteínas con estas diversas estructuras o secuencias. Ciertos efectores, como las hormonas, pueden regular la estabilidad del mRNA al aumentar o disminuir la cantidad de estas proteínas.

Parece ser que **los extremos de moléculas de mRNA participan en la estabilidad del mRNA** (**figura 38-21**). La estructura de cubierta 5′ en el mRNA eucariótico evita ataque por 5′ exonucleasas, y la cola poli(A) impide la acción de 3′ exonucleasas. En moléculas de mRNA que tienen esas estructuras, se cree que un corte endonucleolítico único permite que las exonucleasas ataquen y digieran toda la molécula. Se cree que otras estructuras (secuencias) en la región 5′ no traducida (UTR 5′), la región codificadora, y el UTR 3′ favorecen o impiden esta acción endonucleolítica inicial (figura 38-21). Se citarán algunos ejemplos ilustrativos.

La deleción del UTR 5′ da por resultado una prolongación de tres a cinco veces la vida media del mRNA c-*myc*. El acortamiento de la región del mRNA que codifica para histona da por resultado una vida media prolongada. Una forma de autorregulación de la estabilidad del mRNA involucra de manera indirecta la región codificadora. La tubulina libre se une a los primeros cuatro aminoácidos de una cadena naciente de tubulina a medida que surge desde el ribosoma. Esto parece activar a una RNasa relacionada con el ribosoma, que después digiere el mRNA que codifica para tubulina.

Las estructuras en el extremo 3′, incluso la cola poli(A), aumentan o disminuyen la estabilidad de mRNA específicos. La ausencia de una cola poli(A) se relaciona con degradación rápida de mRNA, y la eliminación de poli(A) desde algunos RNA suscita su desestabilización. Los mRNA que codifican para histona carecen de una cola poli(A) pero tienen una secuencia cerca de la terminal 3′ que puede formar una estructura en forma de tallo-asa, y esto parece proporcionar resistencia al ataque exonucleolítico. El mRNA que codifica para histona H4, por ejemplo, se degrada en la dirección 3′ a 5′, pero sólo después de que ocurre un corte endonucleolítico único a unos nueve nucleótidos del extremo 3′ en la región de la estructura de tallo-asa putativa. Las estructuras de tallo-asa en la secuencia no codificadora 3′ también son cruciales para la regulación, por hierro, del mRNA que codifica para el receptor de transferrina. Las estructuras en tallo-asa también se relacionan con la estabilidad del mRNA en bacterias, lo que sugiere que este mecanismo quizá sea común.

Otras secuencias en los extremos 3′ de ciertos mRNA eucarióticos parecen estar involucradas en la desestabilización de estas moléculas. Como se comentó, parte de esto está mediado por la acción de miRNA específicos. Además, despiertan particular interés las regiones ricas en AU, muchas de las cuales contienen la secuencia AUUUA. Esta secuencia aparece en mRNA que tienen vida media muy breve, entre ellos algunos que codifican para proteínas oncogén y citocinas. La importancia de esta región es subrayada por un experimento en el cual una secuencia que corresponde al UTR 3′ del mRNA que codifica para el factor estimulante de colonia (CSF) de vida breve, que contiene un motivo AUUUA, se añadió al extremo 3′ del mRNA que co-

difica para la globina β. En lugar de hacerse muy estable, este mRNA que codifica para globina β híbrido ahora tuvo la vida media breve característica del mRNA que codifica para el CSF. Gran parte de este metabolismo del mRNA quizá ocurre en los cuerpos P citoplásmicos.

A partir de los ejemplos citados, está claro que se usan varios mecanismos para regular la estabilidad y, por ende, la función del mRNA, de la misma manera que se emplean varios mecanismos para regular la síntesis de mRNA. La regulación coordinada de estos dos procesos confiere notoria adaptabilidad a la célula.

RESUMEN

- Casi todas las constituciones genéticas de células somáticas de metazoario son idénticas.
- El fenotipo (especificidad de tejido o célula) está dictado por diferencias de la expresión de gen de la totalidad de estos genes.
- Las alteraciones de la expresión de gen permiten a una célula adaptarse a cambios ambientales, indicios vinculados con el desarrollo, y señales fisiológicas.
- La expresión de gen puede controlarse en múltiples niveles por cambios en la transcripción, el procesamiento de RNA, la ubicación, y la estabilidad o utilización. La amplificación y los reordenamientos de gen también influyen sobre la expresión de gen.
- Los controles de la transcripción operan en el ámbito de interacciones entre proteína y DNA, y entre una proteína y otra. Estas interacciones despliegan modularidad y especificidad alta de dominio de proteína.
- En factores de transcripción se han identificado varias clases diferentes de dominios de unión a DNA.
- Las modificaciones de cromatina y DNA contribuyen de manera importante en el control de la transcripción eucariótica al modular la accesibilidad al DNA y especificar el reclutamiento de coactivadores y correpresores específicos hacia genes blanco.
- miRNA y siRNA modulan la traducción y la estabilidad del mRNA; estos mecanismos complementan controles de la transcripción para regular la expresión de gen.

REFERENCIAS

Bhaumik SR, Smith E, Shilatifard A, et al: Covalent modifications of histones during development and disease pathogenesis. Nat Struct Mol Biol 2007;14;1008.

Bird AP, Wolffe AP: Methylation-induced repression—belts, braces and chromatin. Cell 1999;99:451.

Bonasio R, Tu S, Reinberg D: Molecular signals of epigenetic states. Science 2010;330:612–616.

Busby S, Ebright RH: Promoter structure, promoter recognition, and transcription activation in prokaryotes. Cell 1994;79:743.

Gerstein MB, Lu ZJ, Van Nostrand EL, et al: Integrative analysis of the *Caenorhabditis elegans* genome by the modENCODE project. Science 2010;330:1775–1787.

Jacob F, Monod J: Genetic regulatory mechanisms in protein synthesis. J Mol Biol 1961;3:318.

Klug A: The discovery of zinc fingers and their applications in gene regulation and genome manipulation. Annu Rev Biochem 2010;79:213–231.

Lemon B, Tjian R: Orchestrated response: a symphony of transcription factors for gene control. Genes Dev 2000;14:2551.

Letchman DS: Transcription factor mutations and disease. N Engl J Med 1996;334:28.

Margueron R, Reinberg D: The polycomb complex PRC2 and its mark in life. Nature 2011;469:343–349.

Näär AM, Lemon BD, Tjian R: Transcriptional coactivator complexes. Annu Rev Biochem 2001;70:475.

Nabel CS, Kohli RM: Demystifying DNA Demethylation Science 2011; 333:1229–1230.

Oltz EM: Regulation of antigen receptor gene assembly in lymphocytes. Immunol Res 2001;23:121.

Ørom UA, Derrien T, Beringer M, et al: Long noncoding RNAs with enhancer-like function in human cells. Cell 2010;143: 46–58.

Ptashne M: *A Genetic Switch,* 2nd ed. Cell Press and Blackwell Scientific Publications, 1992.

Roeder RG: Transcriptional regulation and the role of diverse coactivators in animal cells. FEBS Lett 2005;579:909.

Ruthenburg AJ, Li H, Patel DJ, et al: Multivalent engagement of chromatin modifications by linked binding molecules. Nature Rev Mol Cell Bio 2007;8:983.

Segal E, Fondufe-Mittendorf Y, Chen L, et al: A genomic code for nucleosome positioning. Nature 2006;442:772.

Small EM, Olson EN: Pervasive roles of microRNAs in cardiovascular biology. Nature 2011;469:336–342.

The modENCODE Consortium, Roy S, Ernst J, Kharchenko PV, et al: Identification of functional elements and regulatory circuits by Drosophila modENCODE. Science 2010;330,1787–1797.

Valencia-Sanchez MA, Liu J, Hannon GJ, et al: Control of translation and mRNA degradation by miRNAs and siRNAs. Genes Dev 2006;20:515.

Yang XJ, Seto E: HATs and HDACs: from structure, function and regulation to novel strategies for therapy and prevention. Oncogene 2007;26:5310.

Weake VM, Workman JL: Inducible gene expression: diverse regulatory mechanisms. Nat Rev Genet 2010;11:426–437.

Wu R, Bahl CP, Narang SA: Lactose operator-repressor interaction. Curr Top Cell Regul 1978;13:137.

Zhang Z, Pugh BF: High-resolution genome-wide mapping of the primary structure of chromatin. Cell 2011;144:175-186.

Genética molecular, DNA recombinante y tecnología genómica

CAPÍTULO 39

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar los procedimientos y métodos básicos involucrados en la tecnología de DNA recombinante y la ingeniería genética.
- Apreciar la lógica que está detrás de los métodos que se usan para sintetizar DNA y RNA, analizarlos y secuenciarlos.
- Explicar cómo identificar proteínas individuales y cuantificarlas, tanto solubles como insolubles (esto es, unidas a membrana o compartimentadas dentro de la célula), así como proteínas unidas a secuencias específicas de DNA y RNA genómicos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA*

El desarrollo del DNA recombinante, los microarreglos de DNA de alta densidad, la investigación de alta capacidad de procesamiento, los análisis de bajo costo a escala de genoma, así como la secuenciación de DNA y otras metodologías de genética molecular, han revolucionado la biología y cada vez tienen más repercusiones sobre la medicina clínica. Aun cuando se ha aprendido mucho acerca de la enfermedad genética en seres humanos a partir del análisis de árbol genealógico y el estudio de las proteínas afectadas, estos métodos no pueden usarse en muchos casos en los cuales se desconoce el defecto genético específico. Las nuevas tecnologías sortean estas limitaciones al ir de forma directa a la molécula de DNA para obtener información. La manipulación de una secuencia de DNA y la construcción de moléculas quiméricas —la denominada ingeniería genética— proporcionan un medio para estudiar cómo funciona un segmento de DNA. Los nuevos recursos de genética bioquímica y molecular y la secuenciación directa de DNA permiten a los investigadores hacer preguntas y manipular secuencias genómicas, así como examinar el complemento entero de perfiles tanto de RNA como de proteínas celulares y el estatus PTM proteínico en el ámbito molecular.

Esta tecnología tiene importancia por varias razones: 1) ofrece un método racional para entender la base molecular de diversas enfermedades, por ejemplo, la hipercolesterolemia familiar, la enfermedad de células falciformes, las talasemias, fibrosis quística, distrofia muscular, así como enfermedades multifactoriales más complejas, como enfermedad vascular y cardiaca, cáncer y diabetes. 2) Es posible producir proteínas de ser humano en abundancia para terapia (p. ej., insulina, hormona de crecimiento, activador del plasminógeno hístico). 3) Pueden obtenerse proteínas para vacunas (p. ej., hepatitis B) y para pruebas diagnósticas (p. ej., análisis para Ébola y SIDA). 4) También se usa para diagnosticar enfermedades existentes y predecir el riesgo de una enfermedad dada y la respuesta individual a la farmacoterapia. 5) Técnicas especiales han llevado a notorios avances en medicina forense. 6) Es factible idear terapia génica para, en potencia, curar enfermedades causadas por una deficiencia de un gen único, como la enfermedad de células falciformes, talasemias, deficiencia de adenosina desaminasa, y otras.

LA TECNOLOGÍA DE DNA RECOMBINANTE COMPRENDE AISLAMIENTO Y MANIPULACIÓN DE DNA PARA HACER MOLÉCULAS QUIMÉRICAS

El aislamiento y la manipulación de DNA, incluso unión término-terminal de secuencias de fuentes muy distintas para hacer moléculas quiméricas (p. ej., moléculas que contienen secuencias de DNA tanto de ser humano como bacterianas de un modo independiente de secuencia), es la esencia de la investigación del DNA recombinante. Esto incluye varias técnicas y reactivos únicos.

Las enzimas de restricción cortan cadenas de DNA en ubicaciones específicas

Ciertas endonucleasas —enzimas que cortan el DNA en secuencias de DNA específicas dentro de la molécula (en contraposi-

* Véase el glosario al final de este capítulo.

ción con las exonucleasas, que digieren desde los extremos de las moléculas de DNA)— son un recurso clave en la investigación del DNA recombinante. Estas enzimas se llamaron **enzimas de restricción** porque su presencia en una bacteria dada restringió el crecimiento de ciertos virus de bacterias denominados bacteriófagos. Las enzimas de restricción cortan el DNA de cualquier fuente en fragmentos cortos únicos de una manera específica para secuencia, en contraste con casi todos los otros métodos enzimáticos, químicos o físicos, que rompen el DNA al azar. Estas enzimas defensivas (se han descubierto cientos) protegen al DNA de la bacteria huésped contra el genoma de DNA de organismos extraños (sobre todo fagos infecciosos) al desactivar de modo específico el DNA del fago invasor por medio de digestión. El sistema de interferón inducible por RNA viral (cap. 38, figura 38-11) proporciona la misma clase de defensa molecular contra virus RNA en células de mamífero. Sin embargo, las endonucleasas de restricción sólo están presentes en células que también tienen una enzima acompañante que metila de manera específica para sitio el DNA huésped; ello lo hace un sustrato no idóneo para digestión por esa enzima de restricción particular. Así, **DNA metilasas específicas para sitio** y enzimas de restricción que se dirigen a los mismos sitios exactos siempre existen en pares en una bacteria.

Las enzimas de restricción se denominan con base en la bacteria a partir de la cual fueron aisladas. Por ejemplo, *EcoRI* proviene de *Escherichia coli,* y *BamHI,* de *Bacillus amyloliquefaciens* (**cuadro 39-1**). Las primeras tres letras del nombre de la enzima de restricción constan de la primera letra del género (*E*) y las primeras dos letras de la especie (*co*); éstas pueden ir seguidas por designación de cepa (*R*) y un número romano (*I*) para indicar el orden de descubrimiento (p. ej., *EcoRI, EcoRII*). Cada enzima reconoce y divide una secuencia de DNA bicatenario específica que típicamente tiene 4 a 7 bp de largo. Estos cortes en el DNA dan por resultado **extremos romos** (p. ej., *HpaI*) o que se superponen **(pegajosos o cohesivos**) (p. ej., *BamHI*) (**figura 39-1**), según el mecanismo usado por la enzima. Los extremos pegajosos son en especial útiles para construir moléculas de DNA híbridas o quiméricas (véase más adelante). Si los cuatro nucleótidos están distribuidos al azar en una molécula de DNA dada, es posible calcular la frecuencia con la cual una enzima dada cortará un tramo de DNA. Para cada posición en la molécula de DNA, hay cuatro posibilidades (A, C, G y T); en consecuencia, una enzima de restricción que reconoce una secuencia de 4 bp, corta, en promedio, una vez cada 256 bp (4^4), mientras que otra enzima que reconoce una secuencia de 6 bp, corta una vez cada 4 096 bp (4^6). Un fragmento dado de DNA tiene una disposición lineal característica de sitios para las diversas enzimas, dictada por la secuencia lineal de sus bases; por ende, es posible construir un **mapa de restricción**. Cuando el DNA se digiere con una enzima particular, los extremos de todos los fragmentos tienen la misma secuencia de DNA. Los fragmentos producidos se pueden aislar mediante electroforesis en gel de agarosa o de poliacrilamida (véase la exposición de la electrotransferencia, más adelante); éste es un paso esencial en la clonación del DNA, así como en diversos análisis de DNA y un uso importante de estas enzimas.

CUADRO 39–1 Endonucleasas de restricción seleccionadas y sus especificidades de secuencia

Endonucleasa	Sitios de división reconocidos de secuencia mostrados	Fuente bacteriana
BamHI	↓ GGATCC CCTACC ↑	*Bacillus amyloliquefaciens* H
BglII	↓ AGATCT TCTAGA ↑	*Bacillus glolbigii*
EcoRI	↓ GAATTC CTTAAC ↑	*Escherichia coli* RY13
EcoRII	↓ CCTGG GGACC ↑	*Escherichia coli* R245
HindIII	↓ AAGCTT TTCGAA ↑	*Haemophilus influenzae* R_d
HhaI	↓ GCGC CGCG ↑	*Haemophilus haemolyticus*
HpaI	↓ GTTAAC CAATTC ↑	*Haemophilus parainfluenzae*
MstII	↓ CCTnAGG GGAnTCC ↑	*Microcoleus strain*
PstI	↓ CTGCAG GACGTC ↑	*Providencia stuartii* 164
TaqI	↓ TCGA AGCT ↓	*Thermus aquaticus* YTI

Abreviaturas: A, adenina; C, citosina; G, guanina; T, timina. Las flechas muestran el sitio de división; según el sitio, los extremos del DNA bicatenario dividido resultante se denominan extremos pegajosos (*BamHI*) o extremos romos (*HpaI*). La longitud de la secuencia de reconocimiento puede ser de 4 bp (*TaqI*), 5 bp (*EcoRII*), 6 bp (EcoRI), o 7 bp (*MstII*) o más. Por tradición, se escriben en la dirección 5′ a 3′ para la cadena superior de cada secuencia de reconocimiento, y la cadena inferior se muestra con la polaridad opuesta (es decir, 3′ a 5′). Note que casi todas las secuencias de reconocimiento son palíndromos (esto es, la secuencia se lee igual en direcciones opuestas en las dos cadenas). Un residuo designado n significa que se permite cualquier nucleótido.

Varias otras enzimas que actúan sobre el DNA y RNA son una parte importante de la tecnología de DNA recombinante. Se hace referencia a muchas de éstas en este capítulo y en otros subsiguientes (**cuadro 39-2**).

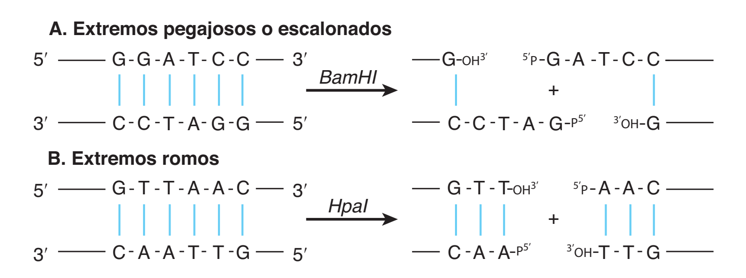


FIGURA 39–1 Resultados de la digestión con endonucleasa de restricción. La digestión con una endonucleasa de restricción puede dar lugar a la formación de fragmentos de DNA con extremos pegajosos, o cohesivos (**A**) o extremos romos (**B**); esqueleto de fosfodiéster, líneas de color negro; enlaces de hidrógeno intercadena entre bases purina y pirimidina, azul. Ésta es una consideración importante al idear estrategias de clonación.

Las enzimas de restricción y la DNA ligasa se usan para preparar moléculas de DNA quiméricas

La ligadura de extremo pegajoso o cohesivo complementario de fragmentos de DNA es fácil desde el punto de vista técnico, pero suelen requerirse algunas técnicas particulares para superar problemas inherentes en este método. Los extremos pegajosos de un vector pueden reconectarse consigo mismos, sin ganancia neta de DNA. Los extremos pegajosos de fragmentos también se renaturalizan de manera que se forman insertos en tándem heterogéneos. Asimismo, los sitios de extremo pegajoso quizá no estén disponibles o en una posición conveniente. Para sortear estos problemas, es factible emplear una enzima que genera extremos romos, mismos que se pueden ligar de modo directo; empero, la ligadura no es direccional. De esta manera, hay dos alternativas: se añaden nuevos extremos usando la enzima terminal transferasa o se añaden extremos pegajosos sintéticos. Si se añade poli d(G) a los extremos 3′ del vector, y se adiciona poli d(C) a los extremos 3′ del DNA extraño usando terminal transferasa, las dos moléculas únicamente pueden renaturalizarse una con otra, lo que sortea los problemas antes listados. Este procedimiento recibe el nombre de colocación de cola de homopolímero. De modo alternativo, enlazadores de oligonucleótido dúplex, con extremo romo, sintéticos, que contienen la secuencia de reconocimiento para una secuencia de enzima de restricción conveniente, se ligan al DNA con extremo romo. La ligadura de extremo romo directa se logra usando la enzima bacteriófago T4 DNA ligasa. Esta técnica, si bien es menos eficiente que la ligadura de extremo pegajoso, plantea la ventaja de unir cualesquiera pares de extremos. Si se usan métodos de extremos romos o de colocación de cola de homopolímero, no hay una manera fácil de recuperar el inserto. Como un adjunto para el uso de endonucleasas de restricción, los científicos recientemente han comenzado a utilizar recombinasas procarióticas o eucarióticas específicas (como sitios lox P bacterianos, reconocidos por la CRE recombinasa, o sitios FRT de levadura, que son reconocidos por la Flp recombinasa) para catalizar la incorporación específica de dos fragmentos de DNA que portan las secuencias de reconocimiento apropiadas. Estas enzimas catalizan recombinación homóloga (figura 35-9) entre los sitios de reconocimiento importantes.

CUADRO 39–2 Algunas de las enzimas usadas en la investigación de DNA recombinante

Enzima	Reacción	Uso primario
Fosfatasa alcalina	Desfosforila extremos 5′ de RNA y DNA	Eliminación de grupos 5′-PO_4 antes de marcado con cinasa; también se emplea para impedir autoligadura
BAL 31 nucleasa	Degrada los extremos tanto 3′ cómo 5′ de DNA	Acortamiento progresivo de moléculas de DNA
DNA ligasa	Cataliza enlaces entre moléculas de DNA	Unión de moléculas de DNA
DNA polimerasa I	Sintetiza DNA bicatenario a partir de DNA monocatenario	Síntesis de cDNA bicatenario; traducción de muesca; generación de extremos romos a partir de extremos pegajosos
Polimerasas DNA termoestables	Sintetiza DNA a temperaturas elevadas (60-80ºC)	Reacción en cadena de la polimerasa (síntesis de DNA)
DNasa I	En condiciones apropiadas, produce muescas de una sola cadena en el DNA	Traducción de muesca; mapeo de sitios hipersensibles; mapeo de interacciones entre proteína y DNA
Exonucleasa III	Elimina nucleótidos de los extremos 3′ del DNA	Secuenciación de DNA; mapeo de interacciones entre DNA y proteína
λ Exonucleasa	Elimina nucleótidos de los extremos 5′ del DNA	Secuenciación de DNA
Polinucleótido cinasa	Transfiere fosfato terminal (posición gamma) desde ATP hacia grupos 5′-OH del DNA o el RNA	Marcado terminal ^{32}P de DNA o RNA
Transcriptasa inversa	Sintetiza DNA a partir de la plantilla de RNA	Síntesis de cDNA a partir de mRNA; estudios de mapeo de RNA (extremo 5′)
S1 nucleasa	Degrada DNA monocatenario	Eliminación de "horquilla" en la síntesis de cDNA; estudios de mapeo de RNA (extremos tanto 5′ como 3′)
Terminal transferasa	Añade nucleótidos a los extremos 3′ del DNA	Fijación de cola de homopolímero

(Adaptado y reproducido, con autorización, de Emery AEH: Page 41 in: *An Introduction to Recombinant DNA*. Wiley, 1984. Copyright © 1984 John Wiley & Sons Limited.)

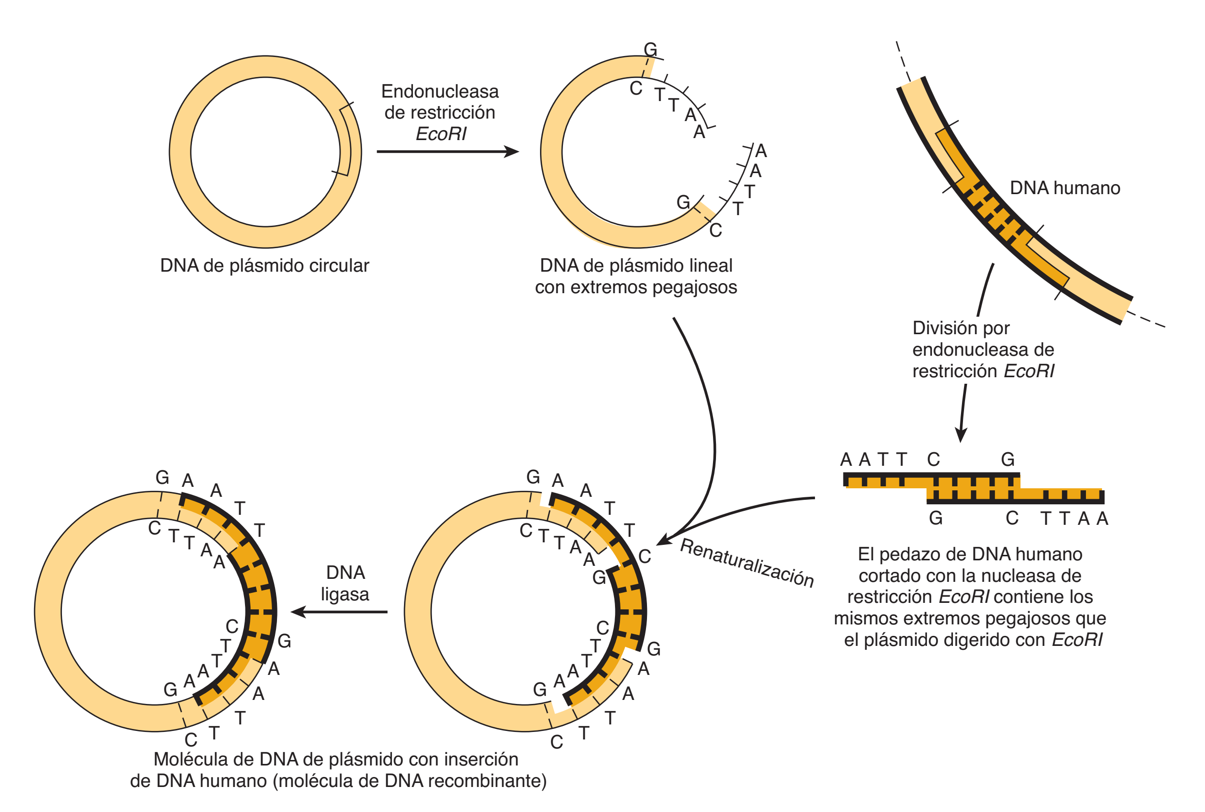


FIGURA 39–2 **Uso de nucleasas de restricción para hacer nuevas moléculas de DNA recombinantes o quiméricas.** Cuando se inserta de regreso hacia una célula bacteriana (por medio del proceso llamado transformación mediada por DNA), una célula única típicamente sólo capta un plásmido único, y el DNA del plásmido se replica no sólo a sí mismo, sino también el inserto de DNA nuevo enlazado físicamente. Dado que la recombinación de los extremos pegajosos, como se indica, suele regenerar la misma secuencia de DNA reconocida por la enzima de restricción original, el inserto de DNA clonado puede cortarse limpiamente de regreso hacia fuera del círculo de plásmido recombinante con esta endonucleasa. Si se usa como la fuente de DNA de ser humano una mezcla de todos los fragmentos de DNA creados mediante tratamiento de DNA humano total con una nucleasa de restricción única, pueden obtenerse alrededor de un millón de diferentes tipos de moléculas de DNA recombinante, cada una pura en su propia clona bacteriana. (Modificada y reproducida, con autorización, de Cohen SN: The manipulation of genes. Sci Am [July] 1975;233:25. Copyright © The Estate of Bunji Tagawa.)

La clonación amplifica el DNA

clona es una población grande de moléculas, bacterias o células idénticas que surgen de un ancestro común. La clonación molecular permite la producción de un gran número de moléculas de DNA idénticas, que se caracterizan o se usan para otros propósitos. Esta técnica se basa en el hecho de que moléculas de DNA quiméricas o híbridas pueden construirse en **vectores de clonación** —típicamente plásmidos, fagos o cósmidos bacterianos— que después se siguen replicando en una célula huésped bajo sus propios sistemas de control. De este modo, el DNA quimérico se amplifica. El procedimiento se ilustra en la **figura 39-2**.

Los **plásmidos** bacterianos son moléculas de DNA pequeñas, circulares, dúplex, que confieren resistencia a antibiótico a la célula huésped. Los plásmidos tienen varias propiedades que los hacen en extremo útiles como vectores de clonación. Existen como copias únicas o múltiples dentro de la bacteria y se replican de manera independiente del DNA bacteriano mientras usan en forma primordial la maquinaria de replicación del huésped. Se conoce la secuencia de DNA completa de muchos plásmidos; por consiguiente, se dispone de la ubicación precisa de sitios de división de enzima de restricción para insertar el DNA extraño. Los plásmidos son de menor tamaño que el cromosoma del huésped y, por tanto, se separan con facilidad de este último, y el DNA insertado en plásmido deseado se elimina con facilidad al cortar el plásmido con la enzima específica para el sitio de restricción en el cual se insertó el fragmento original de DNA.

Los **fagos** (**virus de bacterias**) por lo general tienen moléculas de DNA lineales en las que puede insertarse DNA extraño en varios sitios de enzima de restricción. El DNA quimérico se recolecta luego de que el fago procede por su ciclo lítico y produce partículas de fago infecciosas, maduras. Una ventaja importante de los vectores fago es que mientras que los plásmidos aceptan fragmentos de DNA de alrededor de 6 a 10 kb de largo, los fagos pueden aceptar fragmentos de DNA de 10 a 20 kb de largo, limitación impuesta por la cantidad de DNA que puede aglomerarse en la cabeza del fago durante la propagación del virus.

Fragmentos de mayor tamaño de DNA se pueden clonar en **cósmidos**, que combinan las mejores características de los plásmidos y los fagos. Los cósmidos son plásmidos que contienen las secuencias de DNA, denominadas **sitios cos**, necesarias para aglomerar DNA del bacteriófago lambda hacia la partícula fago. Estos vectores crecen en la forma de plásmido en bacterias, pero dado que se ha eliminado gran parte del DNA lambda innecesario, puede aglomerarse más DNA quimérico en la cabeza de la partícula. Con cierta frecuencia los cósmidos portan insertos de DNA quimérico que tienen 35 a 50 kb de largo. Pueden incorporarse fragmentos de DNA de tamaño aun mayor hacia cromosoma artificial bacteriano (**BAC**), cromosoma artificial de levadura (**YAC**), o vectores basados en P1 (**PAC**) de bacteriófago

CUADRO 39–3 Capacidades de clonación de vectores de clonación comunes

Vector	Tamaño del inserto de DNA (kb)
Plásmido pUC19	0.01 a 10
Lambda charon 4A	10 a 20
Cósmidos	35 a 50
BAC, P1	50 a 250
YAC	500 a 3 000

de *E. coli*. Estos vectores aceptarán y propagarán insertos de DNA de varios cientos de kilobases o más, y en su mayor parte han reemplazado a los vectores plásmido, fago y cósmido para algunas aplicaciones de clonación y mapeo de gen eucariótico. En el **cuadro 39-3** se comparan estos vectores.

Puesto que la inserción de DNA hacia una región funcional del vector interferirá con la acción de esta región, es necesario tener cuidado de no interrumpir una función esencial del vector. Con todo, este concepto se puede explotar para proporcionar una técnica de selección. Por ejemplo, un reactor plásmido temprano común **pBR322** tiene genes que codifican para resistencia tanto a **tetraciclina** (**tet**) como a **ampicilina** (**amp**). Un sitio de enzima de restricción *PstI* único dentro del gen que codifica para resistencia a AMP a menudo se usa como el sitio de inserción para un fragmento de DNA extraño. Además de tener extremos pegajosos (cuadro 39-1 y figura 39-1), el DNA insertado en este sitio altera el gen que codifica para resistencia a AMP, y hace a la bacteria que porta este plásmido sensible a amp (**figura 39-3**). Así, las células que portan el plásmido padre, que proporciona resistencia a ambos antibióticos, pueden distinguirse y separarse con facilidad de las células que portan el plásmido quimérico, que sólo es resistente a tetraciclina. Los YAC contienen funciones de selección, replicación y segregación que actúan tanto en bacterias como en células de levadura y, en consecuencia, pueden propagarse en uno u otro organismo.

Además de los vectores descritos en el cuadro 39-3, diseñados principalmente para propagación en células bacterianas, se han creado otros para propagación en células de mamífero y para insertar expresión de gen (cDNA)/proteína. Todos estos vectores se basan en diversos virus eucarióticos que están compuestos de genomas de RNA o DNA. Los ejemplos notables de esos **vectores virales** son los que utilizan genomas **adenovirales** (**Ad**), o **virales asociados con adenovirus** (**AAV**) (basados en DNA) y **retrovirales** (basados en RNA). Aunque un poco limitados en el tamaño de secuencias de DNA que pueden insertarse, esos **vectores de clonación de virus de mamífero** compensan este punto débil porque infectarán con eficiencia una amplia gama de diferentes tipos de célula. Por este motivo, diversos vectores virales de mamífero están bajo investigación para uso en **terapia génica**, y se utilizan con mayor frecuencia para experimentos de laboratorio.

Una biblioteca es una colección de clonas recombinantes

La combinación de enzimas de restricción y diversos vectores de clonación permite que todo el genoma de un organismo se aglomere de forma individual en un vector. Una colección de estas clonas recombinantes diferentes se llama biblioteca. Una **biblioteca genómica** se prepara a partir del DNA total de una línea celular o un tejido. Una **biblioteca de cDNA** comprende copias de DNA complementarias de la población del mRNA en un tejido. Las bibliotecas de DNA genómicas suelen prepararse al efectuar **digestión parcial del DNA total** con una enzima de restricción que corta DNA con frecuencia (p. ej., un cortador

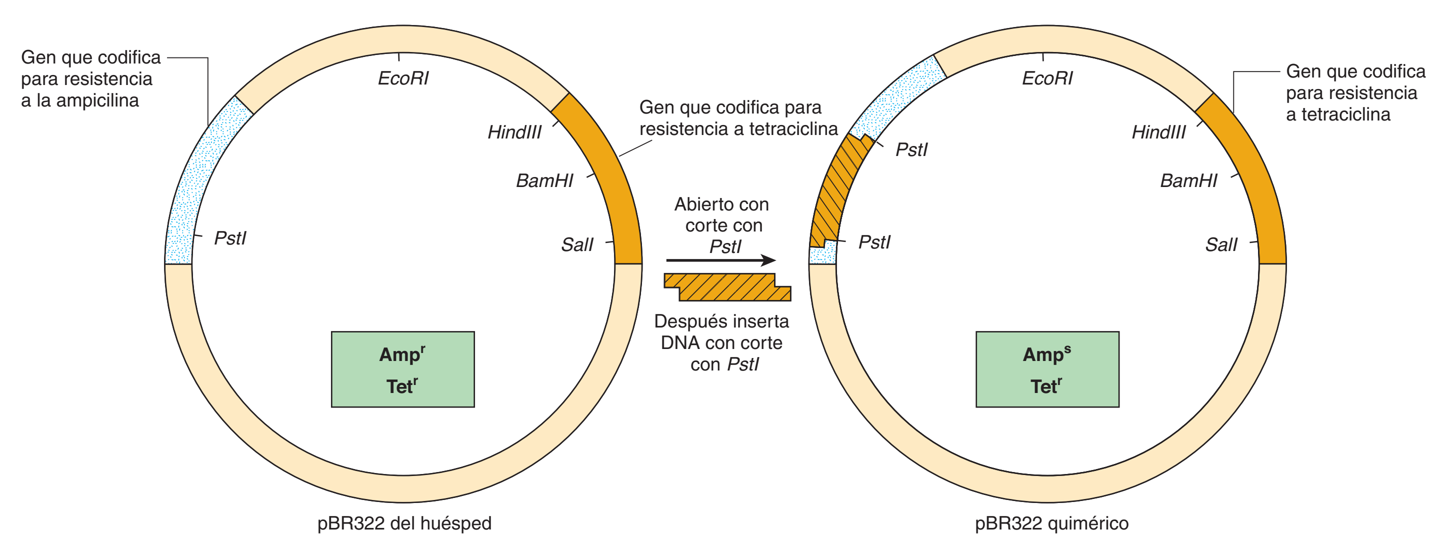


FIGURA 39–3 Un método de investigar recombinantes para fragmentos de DNA insertados. Al emplear el plásmido pBR322, se inserta un fragmento de DNA en el sitio de *PstI* único. Esta inserción altera la codificación de gen para una proteína que proporciona a la bacteria huésped resistencia a ampicilina. Por consiguiente, las células que portan el plásmido quimérico ya no sobrevivirán cuando se colocan en una placa con un medio de sustrato que contiene este antibiótico; por tanto, la sensibilidad diferencial a la tetraciclina y ampicilina puede usarse para distinguir clonas de plásmido que contienen un inserto. Un esquema similar que se fundamenta en la producción de una fusión dentro de cuadro de un DNA recién insertado que da por resultado un fragmento peptídico capaz de complementar una forma N-terminalmente truncada, inactiva, de la enzima β-galactosidasa, un componente del operón *lac* (figura 38-2), permite la formación de colonias de color azul-blanco sobre placas de agar que contienen un colorante hidrolizable por medio de β-galactósido. Las colonias positivas para β-galactosidasa son de color azul; esas colonias contienen plásmidos en los cuales se insertó con éxito un DNA.

de cuatro bases como *TaqI*). La idea es generar más bien fragmentos grandes de modo que casi todos los genes se dejarán intactos. Se prefieren los vectores BAC, YAC y P1 porque pueden aceptar fragmentos muy grandes de DNA y, de esta manera, ofrecen una mejor oportunidad de aislar un gen que codifica para mRNA eucariótico intacto en un fragmento de DNA único.

Un vector en el cual en realidad se sintetiza la proteína codificada por el gen introducido por medio de tecnología de DNA recombinante se conoce como un **vector de expresión**. Esos vectores ahora suelen usarse para detectar moléculas de cDNA específicas en bibliotecas y producir proteínas mediante técnicas de ingeniería genética. Estos vectores están construidos en especial para contener promotores inducibles muy activos, codones de inicio de la traducción en fase apropiados, señales de terminación tanto de la transcripción como de la traducción, y señales de procesamiento de proteína apropiadas, si es necesario. Algunos vectores de expresión incluso contienen genes que codifican para inhibidores de proteasa, de modo que el rendimiento final del producto aumenta. Es interesante que conforme el costo de las síntesis de DNA sintético ha disminuido, muchos investigadores a menudo sintetizan un cDNA completo (gen) de interés (en segmentos de 100 a 150 nt) que incorpora las preferencias de codón del huésped usado para la expresión con el fin de maximizar la producción de proteína. Una mayor eficiencia en la síntesis de DNA sintético ahora permite la síntesis *de novo* de genes e incluso genomas completos. Estos avances marcan el comienzo de nuevas e interesantes posibilidades en la biología sintética, mientras que al mismo tiempo introducen dilemas éticos potenciales.

Las sondas buscan bibliotecas o muestras complejas para genes o moléculas de cDNA específicos

Diversas moléculas pueden emplearse para "sondear" bibliotecas en la búsqueda de un gen o una molécula de cDNA específico o definir y cuantificar DNA o RNA separado por medio de electroforesis mediante diversos geles. Las sondas regularmente son fragmentos de DNA o RNA marcados con un nucleótido que contiene ^{32}P, o nucleótidos marcados con fluorescencia (más a menudo ahora). Es importante señalar que ni una ni otra modificación (marcado con ^{32}P o fluorescente) afecta las propiedades de hibridación de las sondas de ácido nucleico marcadas resultantes. Para que sea eficaz, es necesario que la sonda reconozca una secuencia complementaria. Un cDNA sintetizado a partir de un mRNA específico puede usarse para investigar una biblioteca de cDNA para buscar un cDNA de mayor tamaño, o una biblioteca genómica para buscar una secuencia complementaria en la región codificadora de un gen. Una técnica popular para encontrar genes específicos conlleva tomar una secuencia de aminoácidos corta y, empleando el uso de codón para esa especie (cap. 37), hacer una sonda de oligonucleótido (o mezcla de sonda) que detectará el fragmento de DNA correspondiente en una biblioteca genómica. Si las secuencias coinciden exactamente, sondas de 15 a 20 nucleótidos de largo se hibridarán. Las sondas de cDNA se usan para detectar fragmentos de DNA en las electrotransferencias Southern, y para detectar y cuantificar RNA en electrotransferencias Northern. Anticuerpos específicos también pueden emplearse como sondas con tal de que el vector usado sintetice moléculas de proteína que son reconocidas por ellos.

Técnicas de electrotransferencia e hibridación permiten visualización de fragmentos específicos

La visualización de un fragmento de DNA o RNA específico entre los muchos miles de moléculas "contaminantes" en una muestra compleja requiere la convergencia de diversas técnicas, denominadas en conjunto **electrotransferencia**. En la **figura 39-4** se ilustran los procedimientos de electrotransferencia

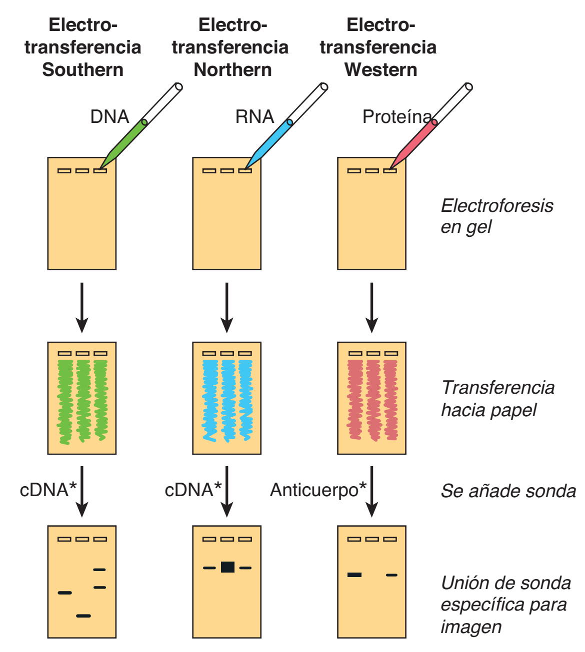


FIGURA 39–4 **Procedimiento de electrotransferencia.** En una electrotransferencia Southern, o de DNA, el DNA aislado a partir de una línea celular o de un tejido se digiere con una o más enzimas de restricción. Esta mezcla se transfiere con pipeta hacia un pozo en un gel de agarosa o de poliacrilamida, y se expone a una corriente eléctrica directa. El DNA, al tener carga negativa, migra hacia el ánodo; los fragmentos de menor tamaño se mueven con mayor rapidez. Luego de un tiempo idóneo, el DNA que está dentro del gel se desnaturaliza mediante exposición a álcalis leves, y se transfiere hacia papel de nitrocelulosa o nailon, lo que origina una réplica exacta del modelo en el gel, por medio de la técnica de electrotransferencia ideada por Southern. El DNA se une al papel mediante exposición a calor o rayos UV, y a continuación el papel se expone a la sonda de cDNA marcada, que se hibrida hacia fragmentos complementarios en el filtro. Después de lavado exhaustivo, el papel es expuesto a placa de rayos X o a un escrutinio de imagen, que se revela para mostrar varias bandas específicas que corresponden al fragmento de DNA que reconoció las secuencias en la sonda de cDNA. La electrotransferencia de RNA, o Northern, es similar desde el punto de vista conceptual. El RNA se sujeta a electroforesis antes de electrotransferencia. Esto necesita algunos pasos diferentes de los de la transferencia de DNA, principalmente para asegurar que el RNA permanezca intacto, y por lo general es un poco más difícil. En la electrotransferencia de proteína o Western, las proteínas se someten a electroforesis y se transfieren hacia papel especial que se une con avidez a macromoléculas, y luego se sondea con un anticuerpo específico u otra molécula sonda. (Los asteriscos significan marcado, sea radiactivo o fluorescente.) En el caso de la electrotransferencia Southwestern (véase el texto; no se muestra), una electrotransferencia de proteína similar a la que se muestra arriba bajo "Western" se expone a ácido nucleico marcado, y los complejos de proteína-ácido nucleico formados se detectan por medio de autorradiografía o técnicas de imagen.

Southern (DNA), **Northern** (RNA) y **Western** (proteína). (El primero se denomina en honor a quien ideó la técnica [Edward Southern], y los otros nombres empezaron como jerga de laboratorio, pero ahora son términos aceptados.) Estos procedimientos son útiles para determinar cuántas copias de un gen hay en un tejido dado, o si hay alguna alteración gruesa en un gen (deleciones, inserciones o reordenamientos) porque el paso de electroforesis que constituye un requisito separa las moléculas con base en el tamaño. A veces, si una base específica se cambia y un sitio de restricción se altera, estos procedimientos pueden detectar una mutación puntual. Las técnicas de electrotransferencia Northern y Western se usan para medir y cuantificar moléculas de RNA y proteínas específicas, respectivamente. Una cuarta técnica de hibridación, la electrotransferencia **Southwestern**, examina interacciones entre proteína y DNA (que no se muestran). En este método, las proteínas se separan por medio de electroforesis, se electrotransfieren a una membrana, se renaturalizan, y son analizadas para buscar una interacción con una secuencia particular mediante incubación con una sonda de ácido nucleico marcada específica.

La **colonia o hibridación de placa** es el método por medio del cual clonas específicas se identifican y purifican. Las bacterias se cultivan como colonias en una placa de agar, y son cubiertas con un papel filtro de nitrocelulosa orientado. Las células de cada colonia se pegan al filtro y se fijan de manera permanente al mismo mediante calor o rayos UV, que con tratamiento con NaOH también lisa las células y desnaturaliza el DNA de manera que está disponible para hibridarlo con la sonda. Se añade una sonda radiactiva al filtro y (después de lavado) el complejo híbrido se localiza por medio de exposición del filtro a una película de rayos X o una pantalla de imágenes. Al hacer coincidir la mancha sobre la autorradiografía (placa de rayos X expuesta y revelada) con una colonia, esta última se puede recoger de la placa. Se usa una estrategia similar para identificar fragmentos en bibliotecas de fago.

Rondas sucesivas de este procedimiento dan por resultado un aislado clonal (una colonia de bacterias) o una placa de fago individual que contiene una inserción de DNA única.

Todos los procesos de hibridación que se comentan en esta sección dependen de las propiedades de formación de pares de bases específicas de cadenas de ácido nucleico complementarias antes descritas. Las coincidencias perfectas se hibridan con facilidad y soportan temperaturas altas en las reacciones de hibridación y lavado. También se forman complejos específicos en presencia de concentraciones bajas de sal. Las coincidencias menos que perfectas no toleran estas **condiciones difíciles** (es decir, temperaturas altas y concentraciones bajas de sal); de este modo, la hibridación nunca ocurre o queda alterada durante el paso de lavado. Las familias de genes, en las cuales hay cierto grado de homología, pueden detectarse al variar lo riguroso de los pasos de hibridación y lavado. Con este método también pueden hacerse comparaciones de un gen dado a través de especies. Se han ideado condiciones de hibridación capaces de detectar sólo un error de emparejamiento de par de base (bp) único entre la sonda y el blanco.

Hay técnicas manuales y automatizadas para determinar la secuencia de DNA

Los segmentos de moléculas de DNA específicas obtenidas mediante tecnología de DNA recombinante se pueden analizar para determinar su secuencia de nucleótido. Este método depende de tener un número grande de moléculas de DNA idénticas. Este requisito puede satisfacerse al clonar el fragmento de interés, usando las técnicas antes descritas, o al usar métodos PCR (ver después). En el **método enzimático manual** (**Sanger**) se emplean desoxinucleótidos específicos que terminan la síntesis de cadena de DNA en nucleótidos específicos a medida que la cadena se sintetiza sobre ácido nucleico plantilla purificado. Las reacciones se ajustan de manera que se obtiene una población de fragmentos de DNA que representan terminación en cada nucleótido. Al tener una marca radiactiva incorporada en el sitio de terminación, es posible separar los fragmentos de acuerdo con el tamaño usando electroforesis en gel de poliacrilamida. Se obtiene una autorradiografía, y cada uno de los fragmentos produce una imagen (banda) en una placa de rayos X o una placa de imágenes, las cuales se leen en orden para dar la secuencia de DNA (**figura 39-5**). Otro método manual es el de **Maxam y Gilbert**, en el que se emplean **métodos químicos** para dividir las moléculas de DNA donde contienen los nucleótidos específicos. Las técnicas que no necesitan el uso de radioisótopos se emplean en la secuenciación de DNA automatizada. Con mayor frecuencia se emplea un procedimiento automatizado en el cual se usan cuatro marcas fluorescentes distintas —una representa cada nucleótido—. Cada una emite una señal específica en el momento de la excitación por un haz láser de una longitud de onda particular medida por detectores de densidad, y esto puede registrarse por medio de una computadora. En los aparatos de secuenciación de DNA más nuevos se usan nucleótidos marcados con fluorescencia, pero detectan incorporación usando óptica microscópica. Estos aparatos han disminuido de modo notorio, más de 100 veces, el costo de la secuenciación del DNA; estos decrementos del costo han introducido la era de la secuenciación de genomas personalizada. De hecho, usando esta nueva tecnología se determinó por completo la secuencia del codescubridor de la doble hélice, James Watson.

La síntesis de oligonucleótido ahora es sistemática

Hoy, la síntesis química automatizada de oligonucleótidos moderadamente largos (alrededor de 100 nucleótidos) de secuencia precisa, es un procedimiento de laboratorio sistemático. Cada ciclo de síntesis requiere sólo algunos minutos, de manera que puede hacerse una molécula completa al sintetizar segmentos relativamente cortos que luego se pueden ligar entre sí. Como se mencionó, el proceso se ha miniaturizado, y puede ponerse en paralelo de manera importante para permitir la síntesis simultánea de cientos a miles de oligonucleótidos de secuencia definida. Los oligonucleótidos ahora son indispensables para la secuenciación de DNA, la investigación de bibliotecas, las valoraciones de unión entre proteína y DNA, la reacción en cadena de polimerasa (PCR) (véase a continuación), la mutagénesis dirigida hacia sitio, la síntesis de gen sintético, y muchas otras aplicaciones.

El método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) amplifica secuencias de DNA

La **PCR** es un método para amplificar una secuencia blanco de DNA. El desarrollo de la PCR ha revolucionado las maneras en

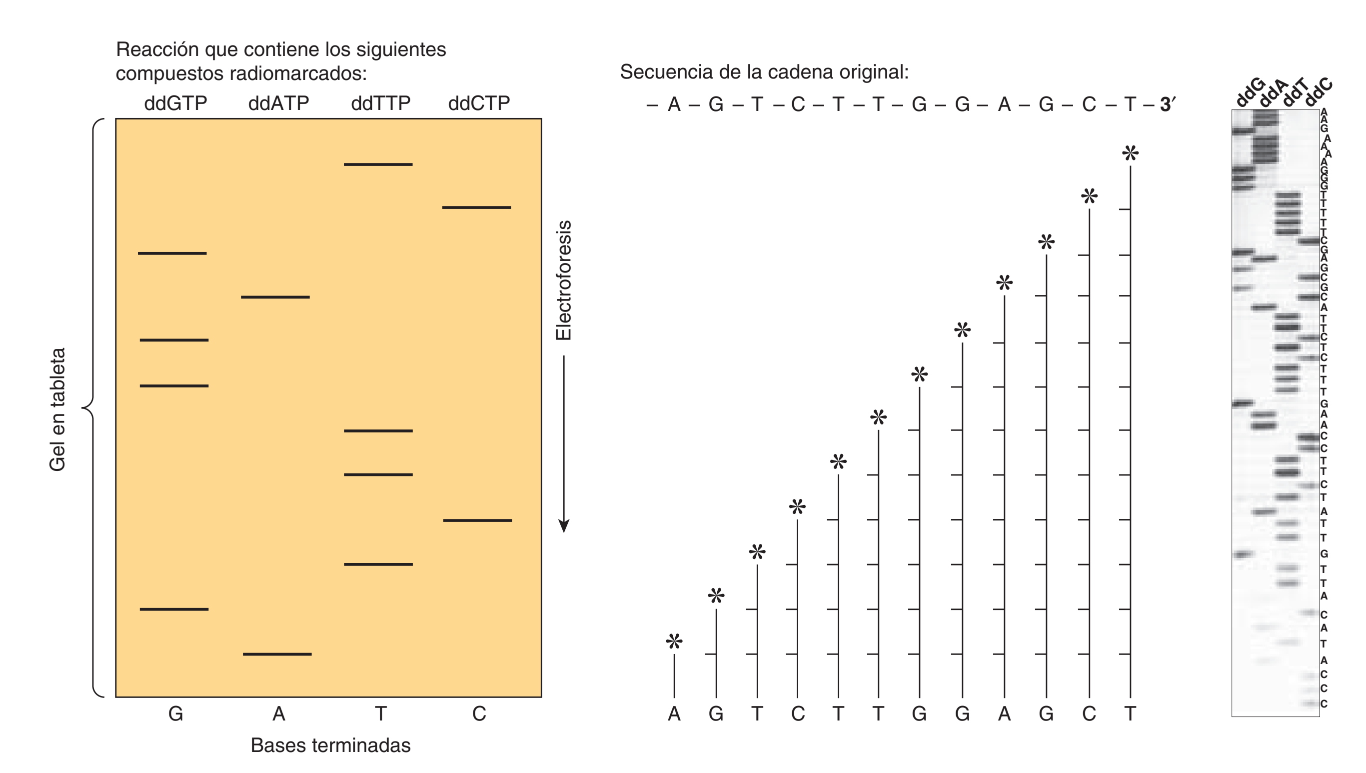


FIGURA 39–5 **Secuenciación de DNA mediante el método de terminación de cadena ideado por Sanger.** Las disposiciones parecidas a escalera representan, de abajo hacia arriba, todos los fragmentos sucesivamente más largos de la cadena de DNA original. Al saber cuál reacción de didesoxinucleótido específica se efectuó para producir cada mezcla de fragmentos, es posible determinar la secuencia de nucleótidos desde el extremo no marcado hacia el marcado (*) al interpretar el gel. Las reglas de formación de pares de bases identificadas por Watson y Crick (A-T, G-C) dictan la secuencia de la otra cadena (complementaria). (Los asteriscos significan el sitio de radiomarcado.) Se muestran (**izquierda, en medio**) los productos de síntesis terminados de un fragmento hipotético de DNA, así como la secuencia. Una autorradiografía (**derecha**) de un grupo real de reacciones de secuenciación de DNA en las que se emplearon los cuatro didesoxinucleótidos ^{32}P-marcados indicados en la porción superior de la autorradiografía escaneada (es decir, didesoxi(dd)G, ddA, ddT, ddC). La electroforesis se llevó a cabo de arriba hacia abajo. La secuencia de DNA deducida se lista en el lado derecho del gel. Note la relación logarítmica-lineal entre la distancia de migración (es decir, de arriba abajo del gel) y la longitud del fragmento de DNA. En los secuenciadores de DNA actuales ya no se utiliza electroforesis en gel para fraccionamiento de productos de síntesis marcados. Además, en las plataformas de secuenciación NGS, la síntesis va seguida por vigilancia de la incorporación de los cuatro dXTP marcados con fluorescencia.

las cuales pueden estudiarse tanto el DNA como el RNA. La PCR proporciona un medio sensible, selectivo y en extremo rápido de amplificar cualquier secuencia de DNA deseada. La especificidad se basa en el uso de dos preparadores oligonucleótido que se hibridan hacia secuencias complementarias en cadenas opuestas de DNA y flanquean la secuencia blanco (**figura 39-6**). La muestra de DNA primero se calienta para separar las dos cadenas del DNA plantilla que contiene la secuencia blanco; se permite que los preparadores —que se añaden en un vasto exceso— renaturalicen (templen) al DNA, y cada cadena se copia mediante una DNA polimerasa, empezando en los sitios preparadores en presencia de los cuatro dXTP. Cada una de las dos cadenas de DNA sirve como plantilla para la síntesis de DNA nuevo a partir de los dos preparadores. Ciclos repetidos de desnaturalización con calor, renaturalización de los preparadores a sus secuencias complementarias, y extensión de los preparadores renaturalizados con DNA polimerasa, producen amplificación exponencial de segmentos de DNA de longitud definida (una duplicación en cada ciclo). En las reacciones de PCR tempranas se usó DNA polimerasa de *E. coli* que se destruía por cada ciclo de desnaturalización con calor, de ahí la necesidad de su readición al comienzo de cada ciclo. La sustitución por una DNA polimerasa estable ante el calor, de *Thermus aquaticus* (o la DNA polimerasa correspondiente de otras bacterias termofílicas), un organismo que vive y se replica a 70 a 80°C, obvia este problema y ha hecho posible la automatización de la reacción, porque las reacciones de polimerasa pueden correrse a 70°C; esto ha mejorado la especificidad y el rendimiento del DNA.

Es posible amplificar secuencias de DNA tan cortas como de 50 a 100 bp y tan largas como de 10 kb; 20 ciclos amplifican 10^6 (esto es, 2^{20}) y 30 ciclos, 10^9 (2^{30}). Cada ciclo requiere ≤5 a 10 min, de modo que incluso moléculas de DNA grandes pueden amplificarse con rapidez. La PCR permite amplificar y analizar el DNA en una sola célula, folículo piloso o espermatozoide. Así, las aplicaciones de la PCR a la medicina forense son obvias. La PCR también se usa para: 1) detectar agentes infecciosos, en especial virus latentes; 2) hacer diagnósticos genéticos prenatales; 3) detectar polimorfismos alélicos; 4) establecer tipos de tejido exactos para trasplantes; 5) estudiar la evolución con DNA de muestras arqueológicas; 6) análisis de RNA cuantitativos después de copia de RNA y cuantificación de mRNA por medio del llamado método de RTPCR (copias de cDNA de mRNA generadas mediante una transcriptasa inversa retroviral), o 7) efectuar puntuación de ocupación de proteína-DNA *in vivo* usando valoraciones de inmunoprecipitación de cromatina para facilitar la secuenciación de NGS (véase más adelante). Hay un igual número de aplicaciones de la PCR a problemas en ciencia básica, y cada año se crean usos nuevos.

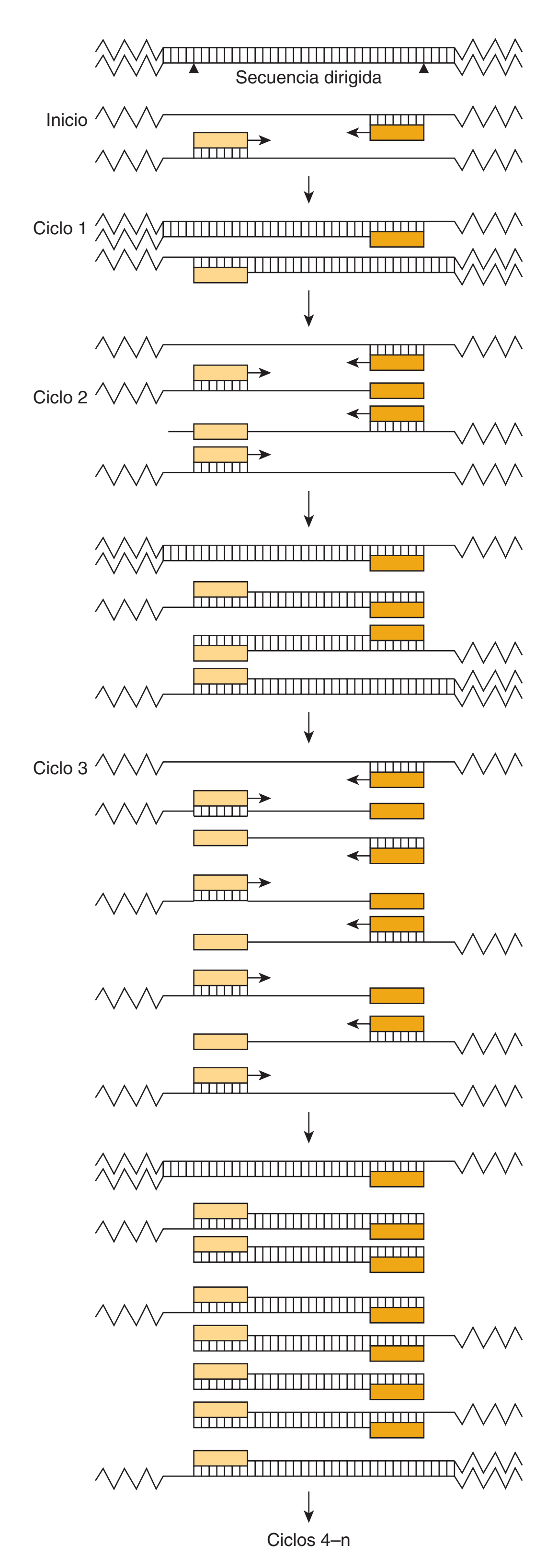


FIGURA 39–6 La reacción en cadena de polimerasa se usa para amplificar secuencias de gen específicas. El DNA bicatenario se calienta para separarlo hacia cadenas individuales, las cuales se unen a dos preparadores distintos que se dirigen a secuencias específicas en cadenas opuestas, y que definen el segmento que va a ser amplificado. La DNA polimerasa extiende los preparadores en cada dirección, y sintetiza dos cadenas complementarias a las dos originales. Este ciclo se repite varias veces, y da un producto amplificado de longitud y secuencia definidas. Note que ambos preparadores están presentes en exceso.

LA TECNOLOGÍA DE DNA RECOMBINANTE TIENE NUMEROSAS APLICACIONES PRÁCTICAS

El aislamiento de un gen que codifica para mRNA específico (alrededor de 1 000 bp) a partir de un genoma entero necesita una técnica que discriminará una parte en un millón. La identificación de una región reguladora que puede tener sólo 10 bp de longitud requiere una sensibilidad de una parte en 3×10^8; una enfermedad como la anemia de células falciformes se origina por un cambio de base único, o una parte en 3×10^9. La tecnología de DNA es lo bastante potente como para lograr todas estas cosas.

El mapeo de gen localiza genes específicos a distintos cromosomas

De este modo, la localización de gen puede definir un mapa del genoma humano: esto ya está produciendo información útil en la definición de enfermedad de seres humanos. La hibridación de células somáticas y la hibridación *in situ* son dos técnicas que se usan para lograr esto. En la **hibridación *in situ***, el procedimiento más simple y más directo, se añade una sonda radiactiva a una dispersión de cromosomas en metafase sobre una laminilla de vidrio. El área precisa de hibridación se localiza al colocar capas de emulsión fotográfica sobre la laminilla y, después de exposición, alinear los granos con alguna identificación histológica del cromosoma. **La hibridación *in situ* fluorescente (FISH), en la que se utilizan sondas fluorescentes en lugar de sondas marcadas con radiactividad**, es una técnica muy sensible que también se usa para este propósito; esto suele colocar al gen en una ubicación sobre una banda o región dada en el cromosoma. El **cuadro 39-4** lista algunos de los genes del ser humano localizados usando estas técnicas; ahí sólo hay una muestra de genes mapeados, dado que decenas de miles de genes se han mapeado como resultado de la reciente secuenciación del genoma humano. Una vez que el defecto se localiza a una región de DNA que tiene la estructura típica de un gen, puede construirse una copia de cDNA sintética del gen, que únicamente contiene exones codificadores de mRNA, y se expresa en un vector apropiado, y es posible evaluar su función —o puede sintetizarse el péptido putativo, deducido a partir del cuadro de lectura abierto en la región codificadora—. Anticuerpos dirigidos contra este péptido pueden usarse para evaluar si este péptido se expresa en personas normales, y si está ausente, o alterado en quienes tienen el síndrome genético.

Es posible producir proteínas para investigación, diagnóstico y comercio

Un objetivo práctico de la investigación sobre DNA recombinante es la producción de materiales para aplicaciones biomédicas. Esta tecnología tiene dos méritos, pues puede proporcionar: 1) grandes cantidades de material que no podrían obtenerse mediante métodos de purificación convencionales (p. ej., interferón, factor activador del plasminógeno hístico), y 2) material humano (p. ej., insulina, hormona de crecimiento). Las ventajas de ambos casos son obvias. Aun cuando el objetivo primario es

CUADRO 39–4 Localización de genes de ser humano[1]

Gen	Cromosoma	Enfermedad
Insulina	11p15	Diabetes
Prolactina	6p23-q12	Síndrome de Sheehan
Hormona del crecimiento	17q21-qter	Deficiencia de hormona de crecimiento
Globina α	16p12-pter	Talasemia α
Globina β	11p12	Talasemia β, células falciformes
Adenosina desaminasa	20q13-qter	Deficiencia de adenosina desaminasa
Fenilalanina hidroxilasa	12q24	Fenilcetonuria
Hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa	Xq26-q27	Síndrome de Lesch-Nyhan
Segmento G8 del DNA	4p	Corea de Huntington

[1] Este cuadro indica la localización cromosómica de varios genes, y las enfermedades relacionadas con producción deficiente o anormal de los productos de gen. El primer número o letra indica el cromosoma afectado. Los otros números y letras se refieren a ubicaciones precisas, según se define en McKusick, Victor A., MD, *Mendelian Inheritance in Man: Catalogs of Autosomal Dominant, Autosomal Recessive, and X-Linked Phenotypes*. Copyright © 1983 Johns Hopkins University Press. Reimpreso con autorización de la Johns Hopkins University Press.

proporcionar productos —por lo general proteínas— para tratamiento (insulina) y diagnóstico (pruebas para SIDA) de enfermedades de seres humanos y otros animales, y para prevención de enfermedad (vacuna contra el virus de la hepatitis B), hay otras aplicaciones comerciales potenciales, sobre todo en la agricultura. Un ejemplo de esto último es el intento de procesar plantas con procedimientos de ingeniería para que sean más resistentes a sequía o temperaturas extremas, tengan más eficiencia para la fijación de nitrógeno, o que produzcan semillas (arroz, trigo, maíz, etc.) que contengan la totalidad de los aminoácidos esenciales.

La tecnología de DNA recombinante se usa en el análisis molecular de enfermedad

Variaciones de gen normales

Hay una variación normal de la secuencia de DNA, de la misma manera que ocurre en otros aspectos más obvios de la estructura del ser humano. Las variaciones de la secuencia de DNA, **polimorfismos**, ocurren aproximadamente una vez cada 500 a 1 000 nucleótidos. Una comparación reciente de la secuencia de nucleótido del genoma de James Watson, el codescubridor de la estructura del DNA, identificó alrededor de 3 300 000 polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en comparación con el genoma de referencia humano secuenciado inicialmente "estándar". Despierta interés que más de 80% de los SNP encontrados en el DNA de Watson ya se había identificado en otros individuos. También hay deleciones genómicas e inserciones de DNA (es decir, **variaciones del número de copias**; **CNV**), así como sustituciones de base única. En personas sanas, estas alteraciones obviamente suceden en regiones no codificadoras del DNA o en sitios que no se traducen en un cambio de la función de la proteína codificada. Este polimorfismo hereditario de la estructura del DNA puede relacionarse con ciertas enfermedades dentro de una familia grande, y puede emplearse para buscar el gen específico afectado, como se ilustra a continuación. También puede usarse en diversas aplicaciones en medicina forense.

Variaciones de gen que dan por resultado enfermedad

La genética clásica enseñaba que casi todas las enfermedades genéticas se debían a mutaciones puntuales que originaban una proteína alterada. Esto todavía puede ser cierto, pero si con la lectura de capítulos previos se predijo que la enfermedad genética podía producirse por alteración de cualquiera de los pasos que van desde la replicación, pasando por transcripción, hasta procesamiento/transporte de RNA y síntesis de proteína, se ha-

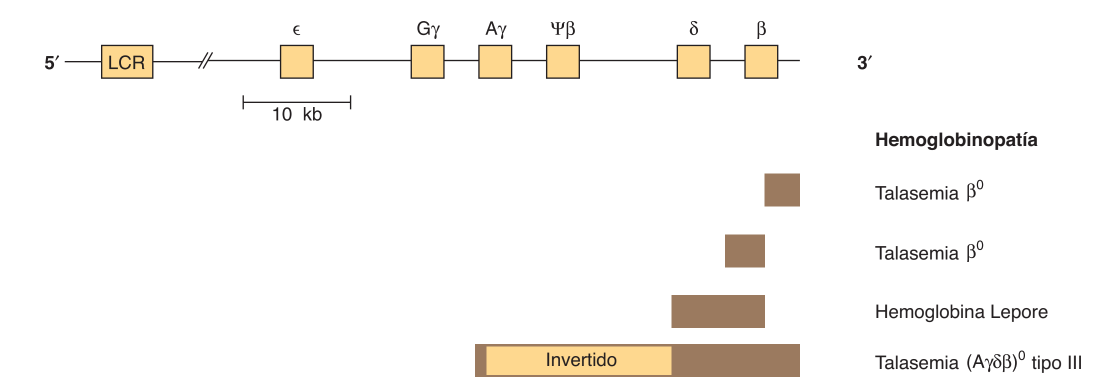


FIGURA 39–7 Representación esquemática de la agrupación de gen que codifica para la globina β, y de lesiones en algunos trastornos genéticos. El gen que codifica para la globina β está localizado en el cromosoma 11 en estrecha asociación con los dos genes que codifican para globina γ y el gen que codifica para globina δ. La familia del gen β está dispuesta en el orden 5′-ε-Gγ-Aγ-Ψβ-δ-β-3′. El *locus* ε se expresa en la vida embrionaria temprana (como $\alpha_2\varepsilon_2$). Los genes γ se expresan en el transcurso de la vida fetal, y producen hemoglobina fetal (HbF, $\alpha_2\gamma_2$). La hemoglobina de adulto consta de HbA ($\alpha_2\beta_2$) o HbA_2($\alpha_2\delta_2$). El Ψβ es un seudogén que tiene homología de secuencia con β pero que contiene mutaciones que evitan su expresión. Una región de control de *locus* (LCR), un potente potenciador localizado torrente arriba (5′) desde el gen, controla el índice de transcripción de toda la agrupación del gen que codifica para globina β. Las deleciones (barra sólida) del *locus* β suscitan talasemia β (deficiencia o falta [β^0] de globina β). Una deleción de δ y β produce hemoglobina Lepore (sólo está presente hemoglobina). Una inversión $(A\gamma\delta\beta)^0$ en esta región (barra de mayor tamaño) altera la función de gen, y ocasiona también talasemia (tipo III). Cada tipo de talasemia tiende a encontrarse en un cierto grupo de personas, por ejemplo, la inversión deleción $(A\gamma\delta\beta)^0$ ocurre en personas de India. Se han mapeado muchas más deleciones en esta región, y cada una se traduce en algún tipo de talasemia.

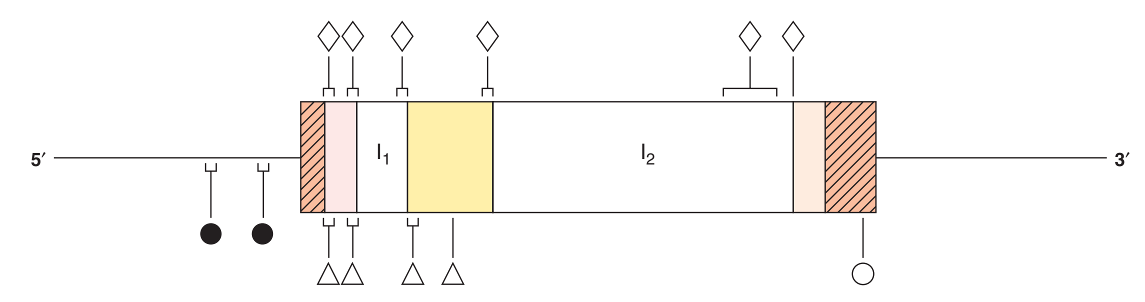


FIGURA 39–8 Mutaciones en el gen que codifica para globina β que dan por resultado talasemia β. El gen que codifica para la globina β se muestra en la orientación-5′ a 3′. Las áreas con trama indican las regiones 5′ y 3′ no traducidas. Leyendo desde la dirección 5′ hacia la 3′, las áreas sombreadas son los exones 1 a 3, y los espacios claros son los intrones 1 (I_1) y 2 (I_2). Las mutaciones que afectan el control de la transcripción (●) están localizadas en el DNA de la región 5′ flanqueante. Se han identificado ejemplos de mutaciones sin sentido (△), mutaciones en el procesamiento del RNA (◇), y las mutaciones de división de RNA (○), y se indican. En algunas regiones se han hallado muchas mutaciones distintas. Éstas se indican por medio de los corchetes.

bría hecho una evaluación apropiada. Este punto se ilustra de nuevo muy bien por medio del examen del gen que codifica para la globina β; dicho gen está ubicado en una agrupación en el cromosoma 11 (**figura 39-7**), y en la **figura 39-8** se ilustra una versión expandida del gen. La producción defectuosa de globina β causa diversas enfermedades, y se debe a muchas lesiones diferentes en el gen que codifica para la globina β y alrededor del mismo (**cuadro 39-5**).

Mutaciones puntuales

El ejemplo clásico es la **enfermedad de células falciformes**, que se produce por mutación de una base única de las 3×10^9 en el genoma, una sustitución de T a A en el DNA, que a su vez suscita un cambio de A a U en el mRNA que corresponde al sexto codón del gen que codifica para la globina β. El codón alterado especifica para un aminoácido diferente (valina en lugar de ácido glutámico), y esto produce una anormalidad estructural de la molécula de globina β. Otras mutaciones puntuales en el gen que codifica para la globina β y alrededor del mismo ocasionan menor producción o, en algunos casos, producción nula, de globina β; la talasemia β es el resultado de estas mutaciones. (Las talasemias se caracterizan por defectos de la síntesis de subunidades de hemoglobina y, de este modo, sobreviene talasemia β cuando hay producción insuficiente de globina β.) En la figura 39-8 se ilustra qué mutaciones puntuales que afectan a cada uno de los muchos procesos incluidos en la generación de un mRNA normal (y, por ende, una proteína normal) han quedado implicadas como una causa de talasemia β.

CUADRO 39–5 Alteraciones estructurales del gen que codifica para globina β

Alteración	Función afectada	Enfermedad
Mutaciones puntuales	Plegado de proteína	Enfermedad de células falciformes
	Control transcripcional	Talasemia β
	Mutaciones por cambio de cuadro o sin sentido	Talasemia β
	Procesamiento de RNA	Talasemia β
Deleción	Producción de mRNA	Talasemia $β^0$
		Hemoglobina Lepore
Reordenamiento	Producción de mRNA	Talasemia β tipo III

Deleciones, inserciones y reordenamientos de DNA

Estudios de bacterias, virus, levaduras, moscas de la fruta, y ahora seres humanos, muestran que fragmentos de DNA pueden moverse de un lugar a otro dentro de un genoma. La deleción de un fragmento de DNA crucial, el reordenamiento de DNA dentro de un gen, o la inserción o amplificación de un fragmento de DNA dentro de una región codificadora o reguladora, pueden causar cambios de la expresión de gen que dan por resultado enfermedad. De nuevo, un análisis molecular de las talasemias produce muchos ejemplos de estos procesos —en especial deleciones— como causas de enfermedad (figura 39-7). Las agrupaciones del gen que codifica para globina parecen tener propensión particular a esta lesión. Las deleciones en la agrupación de globina α, localizada en el cromosoma 16, suscitan talasemia α. Hay una fuerte asociación étnica para muchas de estas deleciones, de manera que los habitantes del norte de Europa, los filipinos, los sujetos de raza negra, y los pueblos del Mediterráneo tienen diferentes lesiones que producen falta de hemoglobina A y talasemia α.

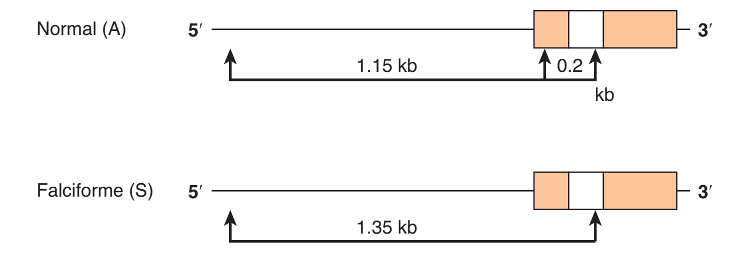
Podría hacerse un análisis similar para varias otras enfermedades. Las mutaciones puntuales por lo general se definen mediante secuenciación del gen en cuestión, aunque en ocasiones, si la mutación destruye o crea un sitio de enzima de restricción, la técnica de análisis de fragmento de restricción puede emplearse para identificar con exactitud la lesión. Las deleciones o inserciones de DNA de más de 50 bp a menudo se pueden detectar por medio del procedimiento de electrotransferencia Southern, mientras que los análisis basados en PCR pueden detectar cambios mucho más pequeños en la estructura del DNA.

Análisis de ascendencia

La enfermedad de células falciformes proporciona una vez más un excelente ejemplo de cómo la tecnología de DNA recombinante puede aplicarse al estudio de la enfermedad en seres humanos. La sustitución de T por A en la cadena plantilla de DNA en el gen que codifica para la globina β cambia la secuencia en la región que corresponde al sexto codón desde:

C C T G A G G Cadena codificadora
G G A C Ⓣ C C Cadena plantilla

A. Sitios de restricción *MstII* alrededor del gen que codifica para globina β, y en el mismo



B. Análisis de ascendencia

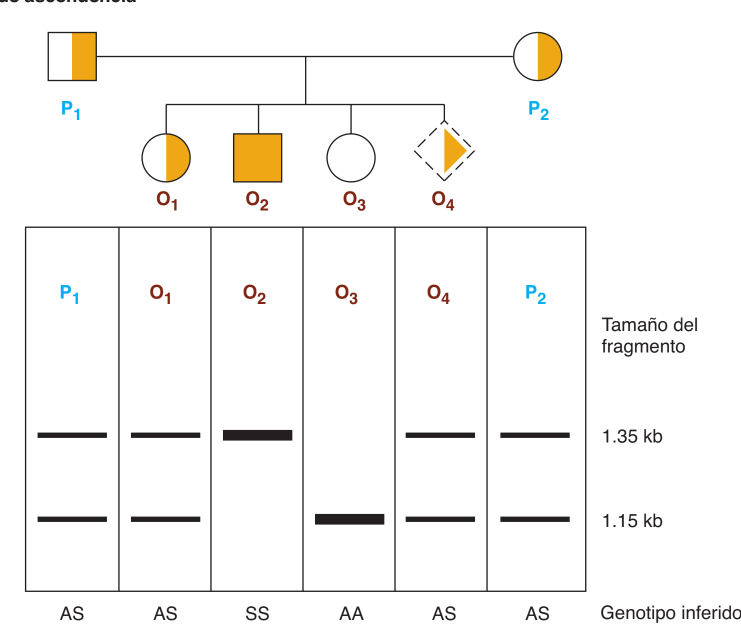


FIGURA 39–9 Análisis de la ascendencia de la enfermedad de células falciformes. La parte superior de la figura (**A**) muestra la primera parte del gen que codifica para globina β, y los sitios de enzima de restricción *MstII* en los genes que codifican para globina β normal (A) y de células falciformes (S). La digestión con la enzima de restricción *MstII* origina fragmentos de DNA de 1.15 kb y 0.2 kb de largo en sujetos normales. El cambio de T a A en personas con enfermedad de células falciformes suprime uno de los tres sitios *MstII* alrededor del gen que codifica para globina β; en consecuencia, se genera un fragmento de restricción único de 1.35 kb de largo en respuesta a *MstII*. Esta diferencia de tamaño se detecta con facilidad en una electrotransferencia Southern. (El fragmento de 0.2 kb correría fuera del gel en esta ilustración.) **B)** El análisis de árbol genealógico muestra tres posibilidades: AA, normal (círculo blanco); AS, heterocigoto (círculos con una mitad a color, cuadrado con una mitad a color); SS, homocigoto (cuadrado a color). Este método puede permitir el diagnóstico prenatal de enfermedad de células falciformes (cuadrado punteado ladeado). Véase el texto.

hacia

```
  ↓
C C T G T G G    Cadena codificadora
G G A C Ⓐ C C    Cadena plantilla
          ↑
```

y destruye un sitio de reconocimiento para la enzima de restricción *MstII* (CCTNAGG; denotada por las flechas verticales pequeñas; cuadro 39-1). Otros sitios de *MstII* 5′ y 3′ desde este sitio (**figura 39-9**) no quedan afectados y, así, se cortarán. Por consiguiente, la incubación de DNA de sujetos normales (AA), heterocigotos (AS) y homocigotos (SS) ocasiona tres modelos diferentes en la electrotransferencia Southern (figura 39-9). Esto ilustra de qué modo puede establecerse la ascendencia de DNA usando los principios que se comentan en este capítulo. El análisis de la ascendencia se ha aplicado a diversas enfermedades genéticas, y es más útil en las que se producen por deleciones e inserciones o los más raros casos en los cuales hay afección de un sitio de división de endonucleasa de restricción, como en el ejemplo aquí citado. Esos estudios ahora se facilitan gracias a la reacción de PCR, que amplifica y, por tanto, proporciona suficiente DNA para análisis a partir de sólo algunas células nucleadas.

Diagnóstico prenatal

Si se entiende la lesión genética, y se dispone de una sonda específica, es posible el diagnóstico prenatal. El DNA de células recolectadas a partir de una cantidad tan pequeña como 10 ml de líquido amniótico (o por medio de biopsia de vellosidades coriónicas) puede analizarse mediante electrotransferencia Southern. Un feto con el modelo de restricción AA en la figura 39-9 no tiene enfermedad de células falciformes ni es un portador. Un feto con el modelo SS presentará la enfermedad. Ahora se dispone de sondas para este tipo de análisis de muchas enfermedades genéticas.

Polimorfismo de longitud de fragmento de restricción (RFLP) y polimorfismo de un solo nucleótido (SNP)

Las diferencias en la secuencia de DNA antes citadas pueden dar por resultado variaciones de los sitios de restricción y, de esta manera, de la longitud de los fragmentos de restricción. De modo similar, los polimorfismos de nucleótido único, o **SNP,** pueden detectarse por medio del método de PCR sensible. Una diferencia hereditaria del modelo de digestión de enzima de restricción (p. ej., una variación del DNA que ocurre en más de 1% de la población general) se conoce como un **polimorfismo de longitud de fragmento de restricción**, o RFLP. Se han construido mapas extensos de RFLP y SNP del genoma humano. Esto está resultando útil en el *Human Genome Analysis Project*, y es un componente de importancia del esfuerzo para entender diversas enfermedades de gen único y multigénicas. Los RFLP se producen por cambios de base única (p. ej., enfermedad de células falciformes), o por deleciones o inserciones (CNV) de DNA

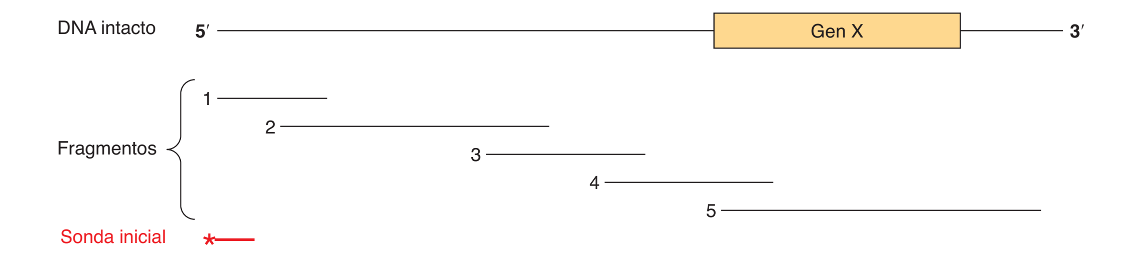


FIGURA 39–10 La técnica de caminata cromosómica. El gen X es aislado desde un fragmento grande de DNA. Se desconoce la ubicación precisa de este gen, pero se dispone de una sonda (*——) dirigida contra un fragmento de DNA (que se muestra en el extremo 5′ en esta representación), al igual que de una biblioteca de clonas que contiene una serie de fragmentos de inserto de DNA que se superponen. En aras de la sencillez, sólo se muestran cinco de ellos. La sonda inicial sólo se hibridará con clonas que contienen el fragmento 1, que entonces se puede aislar y usar como una sonda para detectar el fragmento 2. Este procedimiento se repite hasta que el fragmento 4 se hibrida con el fragmento 5, que contiene la secuencia completa del gen X.

hacia un fragmento de restricción (p. ej., las talasemias) y han resultado ser instrumentos diagnósticos útiles. Se han hallado en *loci* de gen conocidos y en secuencias que no tienen función conocida; de esta manera, los RFLP pueden alterar la función del gen, o pueden no tener consecuencias biológicas manifiestas. Como se mencionó, 80% de los SNP en el genoma de un individuo conocido único ya se habían mapeado de modo independiente mediante los esfuerzos del componente de mapeo de SNP del *International HapMap Project*.

Los RFLP y SNP son hereditarios, y se segregan de manera mendeliana. Un uso importante de SNP/RFLP estriba en la definición de enfermedades hereditarias en las cuales se desconoce el déficit funcional. Los SNP/RFLP pueden usarse para establecer grupos de enlace que, a su vez, por medio del proceso de **caminata cromosómica**, finalmente definirán el *locus* de la enfermedad. En la caminata cromosómica (**figura 39-10**), un fragmento que representa un extremo de un pedazo largo de DNA se usa para aislar otro que se superpone pero que extiende el primero. La dirección de la extensión se determina mediante mapeo de restricción, y el procedimiento se repite de modo secuencial en tanto no se obtiene la secuencia deseada. Se dispone en el comercio de colecciones de DNA genómicos del ser humano, BAC- o PAC-clonados mapeados, que se superponen. Los trastornos enlazados con el cromosoma X se prestan en especial al método de caminata cromosómica, porque sólo se expresa un alelo único. En consecuencia, 20% de los RFLP definidos está en el cromosoma X, y existe un mapa de enlace (y de secuencia genómica) completo de este cromosoma. El gen que codifica para el trastorno ligado a X, distrofia muscular tipo Duchenne, se encontró usando RFLP. De manera similar, el defecto en la enfermedad de Huntington se localizó a la región terminal del brazo corto del cromosoma 4, y el defecto que da por resultado enfermedad renal poliquística está enlazado al *locus* de la globina α en el cromosoma 16.

Polimorfismos de DNA microsatélite

Unidades de DNA con repetición en tándem, hereditarias, cortas (2 a 6 bp) suceden aproximadamente 50 000 a 100 000 veces en el genoma humano (cap. 35). Puesto que ocurren con mayor frecuencia —y en vista de la aplicación sistemática de métodos de PCR sensibles—, han comenzado a reemplazar a los RFLP como los *loci* marcadores para diversas búsquedas en el genoma.

RFLP y VNTR en medicina forense

Los números variables de unidades repetidas en tándem (**VNTR**) son un tipo frecuente de “inserción” que origina un RFLP. Los VNTR pueden ser hereditarios, en cuyo caso son útiles para establecer asociación genética con una enfermedad en una familia o un clan, o pueden ser singulares para un individuo y, así, servir como una huella digital molecular de esa persona.

Secuenciación directa de DNA genómico

Como se mencionó, avances recientes en la tecnología de secuenciación de DNA, las denominadas plataformas de secuenciación de próxima generación (NGS), han reducido de modo notorio el costo de secuenciación de DNA por cada base. La secuencia inicial del genoma humano costó alrededor de 350 000 000 dólares; se estima que el costo de secuenciar el mismo genoma humano diploide de 3×10^9 bp usando las nuevas plataformas de NGS es <0.03% del original. Esta notoria disminución del costo ha estimulado diversas iniciativas internacionales para secuenciar los genomas enteros de miles de individuos de diversos trasfondos raciales y étnicos con el objeto de determinar la magnitud verdadera de polimorfismos de DNA/genoma presentes dentro de la población. La abundante información genética resultante y el costo siempre decreciente de la secuenciación de DNA genómico están incrementando de manera notoria la capacidad para diagnosticar y, finalmente, tratar, enfermedad en seres humanos. Obviamente, cuando la secuenciación del genoma personal se haga común, habrá cambios notorios en la práctica de la medicina, porque finalmente se harán terapias a la medida para la conformación genética exacta de cada individuo.

Terapia génica y biología de células madre

Las enfermedades causadas por deficiencia de un producto de gen único (cuadro 39-4) se prestan en teoría a terapia de reemplazo. La estrategia es clonar una copia normal del gen relevante (p. ej., el gen que codifica para la adenosina desaminasa) hacia un vector que será captado e incorporado con facilidad hacia el genoma de una célula huésped. Células precursoras de la médula ósea están bajo investigación con este propósito, porque probablemente se volverán a asentar en la médula y se replicarán ahí. El gen introducido empezaría a dirigir la expresión de su producto proteínico, lo cual corregiría la deficiencia en la célula huésped.

Como una alternativa para "reemplazar" genes defectuosos para curar enfermedad en seres humanos, muchos científicos están investigando la viabilidad de identificar y caracterizar células madre pluripotenciales, que tienen la capacidad para diferenciarse hacia cualquier tipo de célula en el cuerpo. Resultados recientes en este campo han mostrado que las células somáticas del ser humano adulto pueden convertirse con facilidad en **células madre pluripotenciales inducidas (iPSC)** evidentes por medio de transfección con cDNA que codifican para un puñado de factores de transcripción de unión a DNA. Estos avances y otros nuevos en los campos de la terapia génica y la biología de células madre prometen interesantes y nuevas terapias potenciales para curar enfermedades de seres humanos.

Animales transgénicos

La terapia de reemplazo de gen de células somáticas antes descrita obviamente no se transmitiría hacia la descendencia. Se han ideado otras estrategias para alterar líneas de células germinales, pero sólo se han probado en animales de experimentación. Un cierto porcentaje de genes inyectados hacia un óvulo fecundado de ratón se incorporará hacia el genoma y se hallará en células tanto somáticas como germinales. Se han establecido cientos de animales transgénicos, y éstos son útiles para análisis de efectos específicos para tejido sobre la expresión de gen, y efectos de producción excesiva de productos de gen (p. ej., los del gen que codifica para hormona de crecimiento u oncogenes) y en el descubrimiento de genes involucrados en el desarrollo, proceso que hasta ahora ha sido difícil de estudiar. El método transgénico se ha usado para corregir una deficiencia genética en ratones. Óvulos fecundados obtenidos a partir de ratones con hipogonadismo genético se inyectaron con DNA que contenía la secuencia codificadora para la proteína precursora de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). Este gen se expresó y reguló normalmente en el hipotálamo de un cierto número de los ratones resultantes, y estos animales fueron normales en todos los aspectos. Su descendencia tampoco mostró datos de deficiencia de GnRH; por ende, ésta es evidencia de expresión del transgén en células somáticas, y de su mantenimiento en células germinales.

Alteración o noqueo (*knock out*) de gen dirigido

En animales transgénicos, se están añadiendo una o más copias de un gen al genoma, y es imposible controlar dónde finalmente reside ese gen. Un método complementario —y mucho más difícil— comprende la eliminación selectiva de un gen del genoma. Los animales con noqueo de gen (por lo general ratones) se hacen al crear una mutación que altera por completo la función de un gen. Esto a continuación se usa para reemplazar uno de los dos genes en una célula madre embrionaria que puede emplearse para crear un animal transgénico heterocigoto. El apareamiento de dos animales de ese tipo causará, por genética mendeliana, una mutación homocigota en 25% de la descendencia. Se han creado varios miles de cepas de ratones con noqueo de genes específicos. Se han creado técnicas para alterar genes en células, tejidos u órganos específicos, llamadas noqueos condicionales, o dirigidos. Esto puede lograrse al aprovechar combinaciones particulares de promotor-potenciador que impulsan la expresión de DNA recombinasas o bien de miRNA, ambas de las cuales desactivan la expresión de gen. Estos métodos son en especial útiles en casos en los cuales la ablación de gen en el desarrollo temprano suscita letalidad embrionaria.

Establecimiento de perfil de RNA y proteína, y mapeo de interacción proteína-DNA

La revolución "-ómica" del último decenio ha culminado en la determinación de las secuencias de nucleótido de genomas enteros, incluso las de levaduras gemantes y de fisión, muchas bacterias, la mosca de la fruta, el gusano *Caenorhabditis elegans*, vegetales, el ratón, rata, pollo, mono y, de forma más notable, seres humanos. Se están secuenciando genomas adicionales a un ritmo acelerado. La disponibilidad de toda esta información sobre secuencia de DNA, junto con los avances de ingeniería, ha llevado a la creación de varias metodologías revolucionarias, la mayor parte de las cuales se basa en **tecnología de microarreglo de alta densidad** o **plataformas de secuenciación de siguiente generación (NGS)**. En el caso de microarreglos, ahora es posible depositar miles de secuencias de DNA definibles, conocidas, específicas (más típicamente ahora oligonucleótidos sintéticos) en una laminilla de vidrio estilo microscopio en el espacio de algunos centímetros cuadrados. Al acoplar esos microarreglos de DNA con detección muy sensible de sondas de ácido nucleico marcadas con fluorescencia, hibridadas, derivadas de mRNA, los investigadores pueden generar con rapidez y precisión perfiles de expresión de gen (p. ej., contenido de mRNA celular específico) a partir de muestras de células y de tejidos de tamaño tan pequeño como 1 g o menos. De este modo, en sólo algunos días puede obtenerse con facilidad **información de transcriptoma** completa (la colección completa de RNA celulares) para esas fuentes célula o tejido. En el caso de la NGS, los mRNA son convertidos en cDNA usando transcripción inversa, y estos cDNA son amplificados mediante PCR y secuenciados de manera directa; este método se denomina **RNA-Seq**. Se están desarrollando métodos que permiten la secuenciación de RNA directa, lo que obvia la necesidad del paso de cDNA/PCR. Estos métodos permiten la descripción del transcriptoma completo. Avances metodológicos recientes (**GRO-Seq, secuenciación Global Run-On**, y **NET-seq, secuenciación de transcrito en alargamiento nativo**) permiten la secuenciación de RNA dentro de complejos ternarios de RNA polimerasa-DNA-RNA en alargamiento, lo que permite descripciones en el ámbito de nucleótido, en el ámbito de genoma, de transcripción en células vivas. Esa información de transcriptoma permite predecir de manera cuantitativa el conjunto de proteínas que podrían expresarse en una célula, un tejido u órgano particular en estados normales y de enfermedad con base en los mRNA presentes en esas células. Complementa a este método de establecimiento de perfil de transcripción, de alta capacidad de procesamiento, el desarrollo reciente de métodos para mapear la ubicación, o la ocupación de proteínas específicas unidas a sitios separados dentro de células vivas. Este método se denomina **inmunoprecipitación de cromatina (ChIP)** (**figura 39-11**). Se entrecruzan proteínas *in situ* en células o tejidos, la cromatina se aísla, se rompe, y complejos de proteína-DNA específicos se purifican usando anticuer-

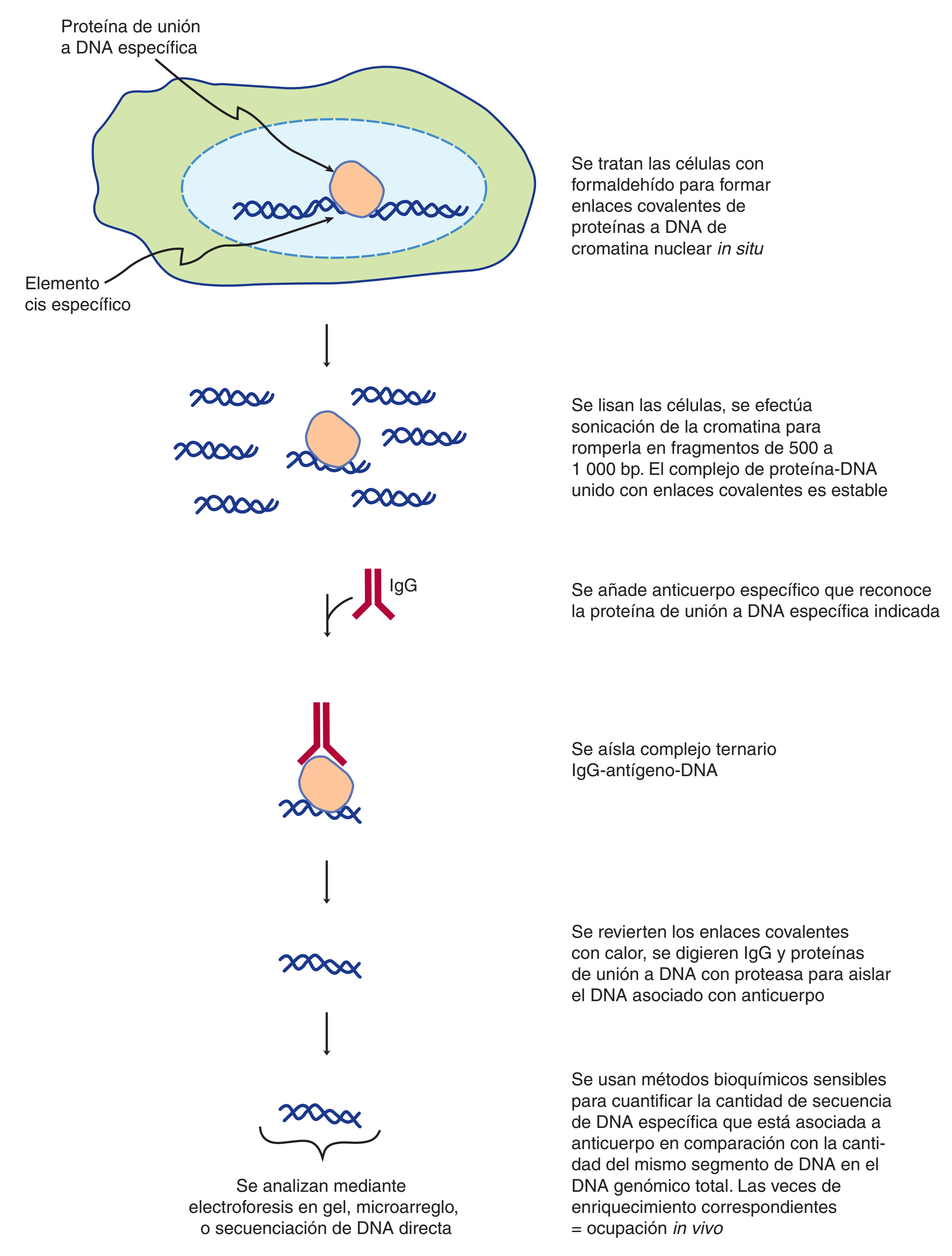


FIGURA 39-11 Esbozo de la técnica de inmunoprecipitación de cromatina (ChIP). Este método permite la localización precisa de una proteína particular (o proteína modificada si se dispone de un anticuerpo apropiado; p. ej., histonas fosforiladas o acetiladas, factores de transcripción, etc.) o un elemento de secuencia particular en células vivas. Dependiendo del método usado para analizar el DNA inmunopurificado, puede obtenerse información cuantitativa o semicuantitativa, en un ámbito de resolución cercano a nucleótido. La ocupación de proteína-DNA puede calificarse en el ámbito de genoma de dos maneras. En primer lugar, mediante ChIP-chip, un método en el que se usa una lectura de salida de hibridación. En el ChIP-chip, el DNA genómico total es marcado con un fluoróforo particular, y el DNA inmunopurificado es marcado con un fluoróforo distinto desde el punto de vista espectral. Estos DNA marcados de manera diferencial se mezclan e hibridan a "chips" de microarreglo (laminillas de microscopio) que contienen fragmentos de DNA específicos, o más comúnmente ahora, oligonucleótido sintético de 50 a 70 nucleótidos de largo. Estos oligonucleótidos específicos para el gen son depositados y fijados de manera covalente en coordenadas predeterminadas conocidas X,Y sobre la laminilla. Los DNA marcados se hibridan, las laminillas se lavan, y la hibridación para cada sonda de oligonucleótido específica para el gen se califica usando examen con láser diferencial y fotodetección sensible a resolución de micrómetro. Las intensidades de señal de hibridación se cuantifican, y la proporción de señales de DNA IP/DNA genómico se usan para calificar niveles de ocupación. En el segundo método, llamado ChIP-seq, se secuencian directamente DNA inmunopurificados usando NGS/métodos de secuenciación profunda. Ambos métodos dependen de algoritmos bioinformáticos eficientes para manejar los juegos de datos muy grandes que se generan. Las técnicas de ChIP-chip y ChIP-seq proporcionan una medida (semi)cuantitativa de ocupación de proteína *in vivo*.

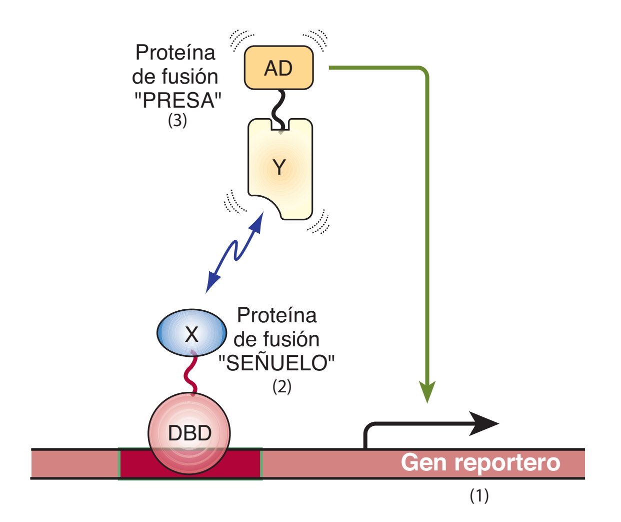


FIGURA 39–12 **Perspectiva general de sistema doble híbrido para identificar y caracterizar interacciones entre una proteína y otra.** Se muestran los componentes y la operación básicos del sistema doble híbrido, originalmente ideado por Fields y Song (*Nature* 340:245–246 [1989]) para funcionar en el sistema de levadura para hornear. **1)** Un gen reportero, sea un marcador seleccionable (esto es, un gen que confiere crecimiento prototípico en medios selectivos, o que produce una enzima para la cual existe una valoración colorimétrica de colonia, como β-galactosidasa) que sólo se expresa cuando un factor de transcripción se une torrente arriba a un potenciador enlazado a *cis* (barra de color rojo oscuro). **2)** Una proteína de fusión "señuelo" (**DBD-X**) producida a partir de un gen quimérico que expresa un dominio de unión a DNA (**DBD**; que suele derivarse de la proteína Gal 4 de levadura o la proteína Lex A bacteriana, ambas proteínas de unión a DNA con afinidad alta y especificidad alta) modular fusionado en cuadro a una proteína de interés, aquí X. En experimentos doble híbrido, se está probando si alguna proteína puede interactuar con la proteína X. La proteína X presa puede fusionarse en su totalidad o a menudo de manera alternativa sólo una parte de la proteína X se expresa en cuadro con el DBD. **3)** Una proteína "presa" (**Y-AD**), que representa una fusión de una proteína específica fusionada en cuadro con un dominio de activación transcripcional (**AD**; que suele derivarse de la proteína VP16 del virus del herpes simple o la proteína Gal 4 de levadura). Este sistema sirve como una prueba útil de interacciones entre una proteína y otra entre las proteínas X y Y porque en ausencia de una unión de transactivador funcional al potenciador indicado, no sucede transcripción del gen reportero (véase la figura 38-16). Así, sólo se observa transcripción si ocurre interacción entre las proteínas X y Y, lo que da un AD funcional para la unidad de transcripción enlazada a *cis,* en este caso, activando la transcripción del gen reportero. En este escenario, la proteína DBD-X sola no activa la transcripción del reportero porque el dominio X fusionado al DBD no contiene un AD. De manera similar, la proteína Y-AD sola no activa la transcripción de gen reportero porque carece de un DBD para dirigir la proteína Y-AD hacia el potenciador. Sólo cuando ambas proteínas se expresan en una sola célula y se unen al potenciador y, mediante interacciones entre una proteína y otra DBD-X-Y-AD, regeneran una "proteína" binaria transactivadora funcional, la transcripción del gen reportero suscita activación de la síntesis de mRNA (línea desde AD hacia el gen reportero).

pos que reconocen una proteína particular, o isoforma de proteína. El DNA unido a esta proteína se recupera y analiza usando PCR y electroforesis en gel, secuenciación directa (**ChIP-SEQ**) o análisis de microarreglo (**ChIP-chip**). Los métodos tanto de ChIP-SEQ como de ChIP-chip permiten a los investigadores identificar las ubicaciones en el ámbito de genoma entero de una proteína única en todos los cromosomas. El ChIP-SEQ permite mapear en resolución de nivel de nucleótidos. Finalmente, se han creado métodos para **espectrometría de masa de metabolitos** (**metabolómica**) **y muestras de proteína complejas** (**proteómica**) de sensibilidad alta, de elevada capacidad de procesamiento. Los métodos de espectrometría de masa más nuevos permiten identificar cientos a miles de proteínas en muestras extraídas a partir de números muy pequeños de células (< 1 g). Esos análisis ahora pueden usarse para cuantificar las cantidades de proteínas en dos muestras, así como el nivel de ciertas PTM, como la fosforilación. Esta información crucial dice a los investigadores cuáles de los muchos mRNA detectados en estudios de mapeo de transcriptoma en realidad se traducen hacia proteína, regularmente el dictador final del fenotipo. También se han estado ideando nuevos medios genéticos para identificar interacciones entre una proteína y otra y función de proteína. El noqueo (*knock-down*) sistemático de la expresión de gen en el ámbito de genoma, usando SiRNA (miRNA), o investigaciones de interacción genética letal sintética, se ha aplicado para evaluar la contribución de genes individuales a diversos procesos en sistemas modelo (levadura, gusanos, moscas) y células de mamífero (de ser humano y de ratón). Mapeos de red específicos de interacciones entre una proteína y otra en el ámbito de todo el genoma se han identificado usando variantes de alta capacidad de procesamiento de la prueba de **interacción de doble híbrido** (**figura 39-12**). Este método sencillo pero potente puede llevarse a cabo en bacterias, levaduras, o células de metazoario, y permite detectar interacciones específicas entre una proteína y otra en células vivas. Experimentos de reconstrucción indican que con este método se pueden detectar fácilmente las interacciones entre una proteína y otra con afinidades de K_d ~1 μM o más estrechas. Juntas, estas tecnologías proporcionan nuevos y potentes recursos con los cuales disecar los pormenores de las propiedades biológicas del ser humano.

Técnicas de microarreglo, secuenciación de DNA de alta capacidad de procesamiento, deleción genética de doble híbrido, y experimentos de identificación de proteína y metabolito espectrométricos, han llevado a la generación de enormes cantidades de datos. El manejo apropiado de datos y la interpretación del aluvión de información que se anticipa a partir de esos estudios se han fundamentado en métodos estadísticos, y esta nueva tecnología, junto con el torrente de información sobre la secuencia del DNA, han llevado a la creación de los campos de la **bioinformática** (cap. 11) **y la biología de sistemas**,

nuevas disciplinas cuyos objetivos son ayudar a manejar, analizar e integrar esta avalancha de información importante en el aspecto biológico. La investigación futura en la intersección de la bioinformática, el establecimiento de perfiles de transcripción-proteína/PTM, y biología de sistemas, revolucionarán la comprensión de la fisiología y la medicina.

RESUMEN

- En la actualidad, diversas técnicas muy sensibles pueden aplicarse al aislamiento y la caracterización de genes, y a la cuantificación de productos de gen.
- En la clonación de DNA, un segmento particular de DNA se elimina de su ambiente normal usando PCR o una de muchas endonucleasas de restricción. Esto a continuación se liga hacia un vector en el cual el segmento de DNA se puede amplificar y producir en abundancia.
- El DNA clonado o sintetizado *in vitro* puede emplearse como una sonda en uno de varios tipos de reacciones de hibridación para detectar otros pedazos de DNA relacionados o adyacentes, o puede usarse para cuantificar productos de gen, como mRNA.
- La manipulación del DNA para cambiar su estructura, la denominada ingeniería genética, es un elemento clave en la clonación (p. ej., la construcción de moléculas quiméricas), y puede emplearse también para estudiar la función de un cierto fragmento de DNA, y para analizar cómo se regulan los genes.
- Moléculas de DNA quiméricas se introducen en células para hacerlas objeto de transfección, o hacia el oocito fecundado para formar animales transgénicos.
- Las técnicas que incluyen DNA clonado o sintético se usan para localizar genes a regiones específicas de cromosomas, identificar los genes de los cuales dependen enfermedades, estudiar de qué modo la regulación fallida de gen produce enfermedad, diagnosticar enfermedades genéticas, y cada vez más se utilizan para tratarlas.

REFERENCIAS

Brass AL, Dykxhoorn DM, Benita Y, et al: Identification of host proteins required for HIV infection through a functional genomic screen. Science 2008;319:921.

Core LJ, Waterfall JJ, Lis JT: Nascent RNA sequencing reveals widespread pausing and divergent initiation at human promoters. Science 2008;322:1845–1848.

Churchman LS, Weissman JS: Nascent transcript sequencing visualizes transcription at nucleotide resolution. Nature 2011;469:368–373.

Friedman A, Perrimon N: Genome-wide high-throughput screens in functional genomics. Curr Opin Gen Dev 2004;14:470.

Gandhi TK, Zhong J, Mathivanan S, et al: Analysis of the human protein interactome and comparison with yeast, worm and fly interaction datasets. Nat Genet 2006;38:285.

Gerstein MB, Lu ZJ, Van Nostrand EL, et al: Integrative analysis of the *Caenorhabditis elegans* genome by the modENCODE project. Science 2010;330:1775–1787.

Gibson DG, Glass JI, Lartigue C, et al: Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. Science 2010;329:52–56.

Gilchrist DA, Fargo DC, Adelman K: Using ChIP-chip and ChIP-seq to study the regulation of gene expression: genome-wide localization studies reveal widespread regulation of transcription elongation. Methods 2009;48:398–408.

Isaacs FJ, Carr PA, Wang HH, et al: Precise manipulation of chromosomes in vivo enables genome-wide codon replacement. Science. 2011;333:348–353.

Kodzius R, Kojima M, Nishiyori H, et al: CAGE: cap analysis of gene expression. Nat Meth 2006;3:211–222.

Martin JB, Gusella JF: Huntington's disease: pathogenesis and management. N Engl J Med 1986;315:1267.

Myers RM, Stamatoyannopoulos J, Snyder M, et al: A user's guide to the encyclopedia of DNA elements (ENCODE). PLoS Biol. 2011;9:e1001046.

Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T: *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

Schlabach MR, Luo J, Solimini NL, et al: Cancer proliferation gene discovery through functional genomics. Science 2008;319:620.

Suter B, Kittanakom S, Stagljar I: Interactive proteomics: what lies ahead? Biotechniques 2008;44:681.

Spector DL, Goldman RD, Leinwand LA: *Cells: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1998.

Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al: Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell 2007;131:861.

The ENCODE Project Consortium: Identification and analysis of functional in 1% of the human genome by the ENCODE Pilot Project. Nature 2007;447:799.

Watson JD, Gilman M, Witkowski JA, et al: *Recombinant DNA,* 2nd ed. Scientific American Books. Freeman, 1992.

Weatherall DJ: *The New Genetics and Clinical Practice,* 3rd ed. Oxford University Press, 1991.

Wernig M, Meissner A, Foreman R, et al: In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. Nature 2007;448:318.

Wheeler DA, Srinivasan M, Egholm M, et al: The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing. Nature 2008;451:872.

Wold B, Myers RM: Sequence census methods for functional genomics. Nat Meth 2008;5:19.

GLOSARIO

ARS: secuencia replicante de manera autónoma; el origen de la replicación en levaduras.

Autorradiografía: la detección de moléculas radiactivas (p. ej., DNA, RNA, proteína) mediante visualización de sus efectos sobre película fotográfica o de rayos X.

Bacteriófago: un virus que infecta a una bacteria.

Biblioteca: colección de fragmentos clonados que representa, en conjunto, todo el genoma. Las bibliotecas pueden ser DNA genómico (en el cual están representados tanto los intrones como los exones) o cDNA (en el cual sólo están representados los exones).

CAGE: análisis de capucha o casquete de la expresión génica. Un método que permite la captura, amplificación, clonación y secuenciación selectivas de mRNA por medio de la estructura capucha o casquete 5′.

chIP, inmunoprecipitación de cromatina: una técnica que permite la determinación de la ubicación exacta de una proteína, o isoforma de proteína, particular, en cualquier ubicación genómica particular en una célula viva. El método se basa en el entrecruzamiento de células vivas, alteración de células, fragmentación del DNA, e inmunoprecipitación con anticuerpos específicos que codifican la proteína cognada enlazada de manera covalente a DNA. Los enlaces covalentes son revertidos, el DNA asociado es purificado, y las secuencias específicas que son purificadas se miden usando cualquiera de varios métodos diferentes.

ChIP-chip, inmunoprecipitación de cromatina analizada por medio de una lectura de salida de hibridación de chip de microarreglo: un método basado en hibridación en el que se usan técnicas de inmunoprecipitación de cromatina (ChIP) para mapear, en el ámbito del genoma, los sitios de unión *in vivo* de proteínas específicas dentro de cromatina en células vivas. La unión de secuencia se determina mediante calentamiento y enfriamiento (*annealing*) de muestras de DNA marcado con fluorescencia a microarreglos (arreglo).

ChIP-Seq, inmunoprecipitación de cromatina analizada mediante una NGS/lectura de salida de secuenciación profunda: localización de unión a DNA genómico en una ChIP determinada mediante secuenciación profunda (*deep/sequencing*) de alta capacidad de procesamiento, más que hibridación a microarreglos.

cDNA: una molécula de DNA monocatenario que es complementaria a una molécula de mRNA, y se sintetiza a partir de la misma por medio de la acción de transcriptasa inversa.

Clona: un gran número de organismos, células o moléculas que son idénticas con un organismo, célula o molécula progenitor único.

Código epigenético: los modelos de modificación de DNA cromosómico (esto es, metilación de citosina) y modificaciones postraduccionales de histona nucleosómica. Estos cambios del estado de modificación pueden llevar a alteraciones notorias de la expresión de gen. Aun así, es notable que la secuencia de DNA subyacente real involucrada no cambia.

Cósmido: un plásmido hacia el cual se han insertado las secuencias de DNA del bacteriófago lambda que son necesarias para la aglomeración de DNA (sitios cos); esto permite que el DNA del plásmido se aglomere *in vitro.*

DNA con extremo pegajoso: cadenas únicas complementarias de DNA que sobresalen desde extremos opuestos de un DNA dúplex o forman los extremos de diferentes moléculas dúplex (véase también DNA con extremo romo).

DNA con extremo romo: dos cadenas de un DNA dúplex que tienen extremos que están alineados entre sí.

DNA recombinante: el DNA alterado que se produce por la inserción de una secuencia de desoxinucleótidos no previamente presente, hacia una molécula de DNA existente, por medios enzimáticos o químicos.

Electrotransferencia Northern: un método para transferir RNA desde un gel de agarosa o de poliacrilamida hacia un filtro de nitrocelulosa, en el cual el RNA puede detectarse mediante una sonda idónea.

Electrotransferencia Southern: método para transferir DNA desde un gel de agarosa hacia filtro de nitrocelulosa, en el cual el DNA se puede detectar mediante una sonda idónea (p. ej., DNA o RNA complementario).

Electrotransferencia Southwestern: método para detectar interacciones entre proteína y DNA al aplicar una sonda de DNA marcada a una membrana de transferencia que contiene una proteína renaturalizada.

Electrotransferencia Western: método para transferir proteína hacia un filtro de nitrocelulosa, en el cual la proteína se puede detectar mediante una sonda idónea (p. ej., un anticuerpo).

Empalme: la eliminación de intrones del RNA, acompañada por la unión de sus exones.

Empalmeosoma: el complejo macromolecular que se encarga del empalme de mRNA precursor. El empalmeosoma consta de al menos 5 RNA nucleares pequeños (snRNA; U1, U2, U4, U5 y U6) y muchas proteínas.

ENCODE Project: *Encyclopedia of DNA Elements Project*; un esfuerzo de múltiples laboratorios de todo el mundo para proporcionar una representación detallada, informativa desde el punto de vista bioquímico, del genoma humano usando métodos de secuenciación de alta capacidad de procesamiento para identificar y catalogar los elementos funcionales dentro de una parte restringida única (~1%; 30 000 000 bp) de un cromosoma de ser humano.

Endonucleasa: una enzima que divide enlaces internos en el DNA o el RNA.

Enzima de restricción: una endodesoxinucleasa que ocasiona división de ambas cadenas de DNA en sitios muy específicos dictados por la secuencia de bases.

Escinucleasa: la nucleasa de escisión comprendida en la reparación de DNA por intercambio de nucleótido.

Establecimiento de huella digital: el uso de RFLP o de DNA de secuencia de repetición para establecer un modelo único de fragmentos de DNA para un individuo.

Establecimiento de huella digital del pie: el DNA con proteína unida es resistente a digestión por enzimas DNasa. Cuando se realiza una reacción de secuenciación usando ese DNA, se detectará un área protegida, que representa la "huella digital del pie" de la proteína unida, porque las nucleasas son incapaces de dividir el DNA directamente unido por la proteína.

Exoma: la secuencia de nucleótidos de todos los exones de mRNA expresados en una célula, tejido, órgano u organismo particular. El exoma difiere del transcriptoma, que representa la totalidad de transcritos de genoma; el exoma representa un subgrupo de secuencias de RNA que componen el transcriptoma.

Exón: la secuencia de un gen que se representa (expresa) como mRNA.

Exonucleasa: enzima que divide nucleótidos desde los extremos 3′ o 5′ del DNA o RNA.

FISH: hibridación *in situ* fluorescente, método que se usa para mapear la ubicación de secuencias de DNA específicas dentro de núcleos fijos.

GRO-Seq, secuenciación Global Run-on: un método en el cual transcritos nacientes son captados de manera específica y secuenciados usando secuenciación de nueva generación (NGS)/secuenciación profunda. Este método permite el mapeo de la ubicación de complejos de transcripción activos.

Hibridación: la reasociación específica de cadenas complementarias de ácidos nucleicos (DNA con DNA, DNA con RNA, o RNA con RNA).

Horquilla: un tramo de doble hélice constituido por formación de pares de bases entre secuencias complementarias vecinas de una cadena única de DNA o RNA.

Inserto: un tramo adicional de pares de bases en el DNA, por lo general introducido mediante las técnicas de tecnología de DNA recombinante.

Intrón: la secuencia de un gen que codifica para mRNA que se transcribe pero que se escinde antes de la traducción. Los genes que codifican para tRNA también pueden contener intrones.

Ligadura: la unión catalizada por enzima en enlace fosfodiéster de dos tramos de DNA o RNA hacia uno; las enzimas respectivas son DNA y RNA ligasas.

Líneas: secuencias repetidas entremezcladas largas.

miRNA: microRNA, especies de RNA de 21 a 22 nucleótidos de largo derivadas a partir de unidades de transcripción de RNA polimerasa II, de 500 a 1 500 bp de longitud por medio de procesamiento de RNA. Se cree que estos RNA, recién descubiertos, desempeñan funciones cruciales en la regulación de gen.

Molécula quimérica: una molécula (p. ej., DNA, RNA, proteína) que contiene secuencias derivadas de dos especies diferentes.

NET-seq, secuenciación de alargamiento nativo: análisis en el ámbito de genoma de extremos 3′ de cadena naciente de mRNA eucariota mapeados a resolución en el ámbito de nucleótido. Los

complejos de alargamiento de RNA polimerasa II son captados por medio de inmunopurificación con IgG anti-Pol II, y RNA nacientes que contienen un grupo 3′OH libre son marcados por medio de ligadura con un enlazador de RNA y después amplificados mediante PCR y sujetados a secuenciación profunda.

Oligonucleótido: una secuencia corta y definida de nucleótidos unidos entre sí en el enlace fosfodiéster típico.

Ori: el origen de replicación de DNA.

PAC: un vector de clonación de alta capacidad (70 a 95 kb) basado en el bacteriófago P1 de *E. coli* lítico que se replica en bacterias como un elemento extracromosómico.

Palíndromo: secuencia de DNA dúplex que es la misma cuando las dos cadenas se leen en direcciones opuestas.

Plásmido: pequeña molécula circular, extracromosómica, de DNA, que se replica de modo independiente del DNA huésped.

Polimorfismo microsatélite: heterocigosidad de una cierta repetición microsatélite en un individuo.

Primosoma: el complejo móvil de helicasa y primasa que está involucrado en la replicación del DNA.

Proteosoma: la colección completa de proteínas expresadas en un organismo.

Reacción en cadena de polimerasa (PCR): método enzimático para el copiado repetido (y, de esta manera, la amplificación) de las dos cadenas de DNA que constituyen una secuencia de gen particular.

RNA-Seq: un método en el cual poblaciones de RNA celular son convertidas, por medio de ligadura a enlazador y PCR, en cDNA que a continuación quedan sujetos a secuenciación profunda para determinar la secuencia completa de esencialmente todos los RNA en la preparación.

RT-PCR: método usado para cuantificar las concentraciones de mRNA, que se fundamenta en un primer paso de copia de cDNA de mRNA catalizado por la transcriptasa inversa antes de amplificación con PCR y cuantificación.

Secuencias de repetición microsatélite: secuencias de repetición dispersas o en grupo, de 2 a 5 bp repetidas hasta 50 veces. Pueden suceder en 50 000 a 100 000 ubicaciones en el genoma.

Señal: el producto terminal observado cuando una secuencia específica de DNA o RNA se detecta mediante autorradiografía o algún otro método. Generalmente se usa hibridación con un polinucleótido radiactivo complementario (p. ej., por medio de electrotransferencia Southern o Northern) para generar la señal.

Seudogén: un segmento de DNA inactivo que surge por mutación de un gen activo progenitor; típicamente se genera por transposición de una copia de cDNA de un mRNA.

Sines: secuencias de repetición entremezcladas cortas.

SiRNA: RNA silenciadores, de 21 a 25 nt de longitud, generados por degradación nucleolítica selectiva de RNA bicatenarios de origen celular o viral. Los siRNA se renaturalizan a diversos sitios específicos dentro del blanco en RNA que conducen a degradación de mRNA, de ahí el nombre “noqueo (*knock-down*) de gen”.

SNP: polimorfismo de nucleótido único. Se refiere al hecho de que la variación genética de nucleótido único en la secuencia del genoma existe en *loci* separados en todos los cromosomas. La medición de las diferencias de SNP alélicas es útil para estudios de mapeo de gen.

snRNA: RNA nuclear pequeño. Esta familia de RNA se conoce mejor por su función en el procesamiento de mRNA.

Sonda: una molécula usada para detectar la presencia de un fragmento de DNA o RNA específico en, por ejemplo, una colonia de bacterias que se forma a partir de una biblioteca genética o durante análisis por medio de técnicas de electrotransferencia; las sondas comunes son moléculas de cDNA, oligodesoxinucleótidos sintéticos de secuencia definida, o anticuerpos contra proteínas específicas.

Tándem: usado para describir múltiples copias de la misma secuencia (p. ej., DNA) que yacen adyacentes entre sí.

Terminal transferasa: enzima que añade nucleótidos de un tipo (p. ej., residuos desoxiadenonucleotidilo) al extremo 3′ de cadenas de DNA.

Traducción: síntesis de proteína usando mRNA como plantilla.

Traducción de muesca: técnica para marcar DNA que se basa en la capacidad de la DNA polimerasa de *E. coli* para degradar una cadena de DNA que se ha mellado, y después para volver a sintetizar la cadena; si se emplea un nucleósido trifosfato radiactivo, la cadena reconstruida queda marcada, y puede usarse como una sonda radiactiva.

Transcripción: síntesis de ácidos nucleicos dirigida por DNA plantilla; típicamente síntesis de RNA dirigida por DNA.

Transcripción inversa: síntesis de DNA dirigida por RNA, catalizada por la transcriptasa inversa.

Transcriptoma: la colección completa de mRNA expresados en un organismo, célula, tejido u órgano.

Transgénico: describe la introducción de DNA nuevo hacia células germinales por medio de su inyección hacia el núcleo del huevo.

Variación del número de copias (CNV): cambio del número de copias de regiones de DNA genómicas específicas entre dos o más sujetos. Las CNV pueden ser tan grandes como de 10^6 bp de DNA, e incluir deleciones o inserciones.

Vector: un plásmido o bacteriófago hacia el cual puede introducirse DNA extraño para los propósitos de clonación.

Preguntas de examen

Sección IV

1. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca de derivados β,γ-metileno y β,γ-imino de trifosfatos de purina y pirimidina es CORRECTA?
   A. Son fármacos anticáncer potenciales.
   B. Son precursores de vitaminas B.
   C. Pasan fácilmente por eliminación hidrolítica del fosfato terminal.
   D. Pueden usarse para implicar participación de nucleótido trifosfatos por efectos que no son transferencia de fosforilo.
   E. Sirven como precursores de polinucleótido.

2. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca de las estructuras de nucleótido es INCORRECTA?
   A. Los nucleótidos son ácidos polifuncionales.
   B. La cafeína y la teobromina difieren estructuralmente sólo respecto al número de grupos metilo fijos a sus nitrógenos en anillo.
   C. Los átomos de la porción anillo de purina de pirimidinas se numeran en la misma dirección que los de una pirimidina.
   D. El NAD^+, FMN, "metionina activa" y coenzima, son derivados de ribonucleótidos.
   E. El AMP y GMP 3′,5′-cíclicos (cAMP y cGMP) sirven como segundos mensajeros en bioquímica de seres humanos.

3. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen acerca del metabolismo de nucleótidos de purina es INCORRECTA?
   A. Un paso temprano en la biosíntesis de purina es la formación de PRPP (fosforribosil 1-pirofosfato).
   B. La inosina monofosfato (IMP) es un precursor tanto del AMP como del GMP.
   C. El ácido orótico es un intermediario en la biosíntesis de nucleótido de pirimidina.
   D. Los seres humanos catabolizan la uridina y seudouridina mediante reacciones análogas.
   E. La ribonucleótido reductasa convierte nucleósido difosfatos en los desoxirribonucleósido difosfatos correspondientes.

4. ¿Cuál de las afirmaciones que siguen es INCORRECTA?
   A. Los trastornos metabólicos sólo rara vez se asocian con defectos del catabolismo de purinas.
   B. Las disfunciones inmunitarias se asocian tanto con una adenosina desaminasa defectuosa como con una purina nucleósido fosforilasa defectuosa.
   C. El síndrome de Lesch-Nyhan refleja un defecto de la hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa.
   D. La litiasis por xantina puede deberse a un defecto grave de la xantina oxidasa.
   E. La hiperuricemia puede producirse por enfermedades como cáncer que se caracterizan por aumento del recambio tisular.

5. ¿Cuáles de los componentes que siguen se encuentran en el DNA?
   A. Un grupo fosfato, adenina y ribosa.
   B. Un grupo fosfato, guanina y desoxirribosa.
   C. Citosina y ribosa.
   D. Timina y desoxirribosa.
   E. Un grupo fosfato y adenina.

6. El esqueleto de una molécula de DNA está compuesto ¿de cuál de los que siguen?
   A. Azúcares y bases nitrogenadas alternantes.
   B. Bases nitrogenadas solas.
   C. Grupos fosfato solos.
   D. Grupos fosfato y azúcar alternantes.
   E. Azúcares de cinco carbonos solos.

7. Los enlaces que se interconectan, que conectan los nucleótidos de RNA y DNA se denominan:
   A. Enlaces *N*-glucosídicos.
   B. Enlaces 3′-5′-fosfodiéster.
   C. Fosfomonoésteres.
   D. Enlaces 3′-2′-fosfodiéster.
   E. Enlaces de ácido nucleico peptídico.

8. ¿Cuál componente del dúplex RNA hace que la molécula tenga una carga negativa a pH fisiológico?
   A. Desoxirribosa.
   B. Ribosa.
   C. Grupos fosfato.
   D. Ion cloro.
   E. Adenina.

9. ¿Cuál característica molecular listada hace que el DNA dúplex muestre una anchura casi constante a lo largo de su eje longitudinal?
   A. Una base nitrogenada purina siempre forma pares con otra base nitrogenada purina.
   B. Una base nitrogenada pirimidina siempre forma pares con otra base nitrogenada pirimidina.
   C. Una base nitrogenada pirimidina siempre forma pares con una base nitrogenada purina.
   D. La repulsión entre grupos fosfato mantiene las cadenas separadas a una distancia uniforme.
   E. La atracción entre grupos fosfato mantiene las cadenas separadas a una distancia uniforme.

10. El modelo para la replicación del DNA propuesto por vez primera por Watson y Crick propuso que toda la molécula de DNA dúplex hija bicatenaria recién replicada:
    A. Estaba compuesta de las dos cadenas de la molécula de DNA progenitora.
    B. Contenía solamente las dos cadenas de DNA recién sintetizadas.
    C. Contenía dos cadenas que son mezclas al azar de DNA nuevo y viejo dentro de cada cadena.
    D. Estaba compuesto de una cadena derivada del dúplex de DNA progenitor original y una cadena recién sintetizada.
    E. Estaba compuesto de secuencias de nucleótido por completo distintas de una u otra cadena de DNA original.

11. Nombre el mecanismo mediante el cual se sintetiza RNA a partir de DNA.
    A. Duplicación replicacional.
    B. Traducción.
    C. Reparación translesión.
    D. Transesterificación.
    E. Transcripción.

12. ¿Cuál de las fuerzas o interacciones listadas a continuación desempeña el papel predominante en impulsar la formación de las estructuras secundaria y terciaria del RNA?
    A. Repulsión hidrofílica.
    B. Formación de regiones de pares de bases complementarias.
    C. Interacción hidrofóbica.
    D. Interacciones de van der Waals.
    E. Formación de puente de sal.

13. Nombre la enzima que sintetiza RNA a partir de una plantilla de DNA bicatenario.
    A. RNA polimerasa dependiente de RNA.
    B. RNA convertasa dependiente de DNA.
    C. Replicasa dependiente de RNA.
    D. RNA polimerasa dependiente de DNA.
    E. Transcriptasa inversa.

14. Defina la diferencia característica más notable respecto a la expresión de gen entre eucariotas y procariotas.
    A. Longitudes de nucleótido de RNA ribosómico.
    B. Mitocondrias.
    C. Lisosomas y peroxisomas.
    D. Secuestro del material genómico en el núcleo.
    E. Clorofila.

15. ¿Cuál de las cifras que siguen describe correctamente el ~ número de bp de DNA _______, que está separado hacia _______ cromosomas en una célula humana diploide típica en un estado sin replicación?
    A. 64 mil millones, 23.
    B. 6.4 billones, 46.
    C. 23 mil millones, 64.
    D. 64 mil millones, 46.
    E. 6.4 mil millones, 46.

16. ¿Cuál es el número aproximado de pares de bases asociadas con un nucleosoma único?
    A. 146.
    B. 292.
    C. 73.
    D. 1 460.
    E. 900.

17. Todas salvo una de las histonas que siguen se encuentran ubicadas dentro de la superhélice formada entre el DNA y el octámero de histona; esta histona es
    A. Histona H2B.
    B. Histona H3.
    C. Histona H1.
    D. Histona H3.
    E. Histona H4.

18. La cromatina puede definirse ampliamente como activa y reprimida; una subclase de cromatina que está específicamente desactivada en ciertos momentos en el transcurso de la vida de un organismo, o en grupos particulares de células diferenciadas, o en ambos, se denomina:
    A. Eucromatina constitutiva.
    B. Heterocromatina facultativa.
    C. Eucromatina.
    D. Heterocromatina constitutiva.

19. ¿Cuál de las opciones que siguen plantea la hipótesis de que el estado físico y funcional de una cierta región de cromatina genómica depende de los patrones de modificaciones postraduccionales (PTM) de histona específicos, o del estado de metilación del DNA, o ambos?
    A. Código Morse.
    B. Hipótesis de la PTM.
    C. Hipótesis del cuerpo nuclear.
    D. Código epigenético.
    E. Código genético.

20. ¿Cuál es el nombre del tramo repetido poco común de DNA localizado en los extremos de todos los cromosomas eucarióticos?
    A. Cinetocoro.
    B. Telómero.
    C. Centriolo.
    D. Cromómero.
    E. Micrómero.

21. Dado que las DNA polimerasas son incapaces de sintetizar DNA sin un cebador, ¿cuál molécula sirve como el cebador para estas enzimas durante la replicación del DNA?
    A. Azúcares de cinco carbonos.
    B. Desoxirribosa sola.
    C. Una molécula de RNA corto.
    D. Proteínas con grupos hidroxilo libres.
    E. Fosfomonoéster.

22. La replicación de DNA discontinua que ocurre durante la replicación es catalizada por medio de la producción de segmentos de DNA pequeños llamados:
    A. Fragmentos de Okazaki.
    B. Piezas de Toshihiro.
    C. Oligonucleótidos de Onishi.
    D. Cadenas de Crick.
    E. Fragmentos de Watson.

23. ¿Qué molécula o fuerza proporciona la energía que impulsa el alivio de la tensión mecánica por la DNA girasa?
    A. Conversión de pirimidina en purina.
    B. Hidrólisis de GTP.
    C. Hidrólisis de ATP.
    D. Glucólisis.
    E. Una molécula o fuerza de gradiente de protón.

24. ¿Cuál es el nombre de la fase del ciclo celular entre la conclusión de la división celular y el inicio de la síntesis de DNA?
    A. G_1.
    B. S.
    C. G_2.
    D. M.
    E. G_0.

25. ¿En qué etapa del ciclo celular se activan proteína cinasas clave, como la cinasa dependiente de ciclina?
    A. Inmediatamente antes de la mitosis.
    B. Al principio de la fase S.
    C. Cerca del final de la fase G_1.
    D. Al final de la fase G_2.
    E. Todas las anteriores.

26. ¿Qué enfermedad suele relacionarse con la pérdida de la capacidad de una célula para regular/controlar su propia división?
    A. Enfermedad renal.
    B. Cáncer.
    C. Enfisema.
    D. Diabetes.
    E. Enfermedad del corazón.

27. ¿Cuál es el mecanismo molecular del cual depende la disminución rápida de la actividad de Cdk que lleva a salida de la fase M y entrada hacia la fase G_1?
 A. Disminución de la concentración de ciclina mitótica.
 B. Decremento de la concentración de ciclina G_1.
 C. Aumento de la concentración de ciclina G_2.
 D. Aumento de la concentración de ciclina mitótica.
 E. Aumento de la concentración de ciclina G_1.

28. El sitio al cual la RNA polimerasa se une en la plantilla de DNA antes del inicio de la transcripción.
 A. Unión de intrón/exón.
 B. Marco de lectura abierto DNA el terminador.
 C. Terminador.
 D. Codón metionina iniciador.
 E. Promotor.

29. Los genes que codifican para rRNA eucariótico grande, como los genes que codifican para RNA 18S y 28S, son transcritos ¿por cuál de las RNA polimerasas que siguen?
 A. RNA polimerasa III.
 B. RNA polimerasa δ dependiente de RNA.
 C. RNA polimerasa I.
 D. RNA polimerasa II.
 E. RNA polimerasa mitocondrial.

30. Las RNA polimerasas eucarióticas tienen un requerimiento de gran variedad de proteínas accesorias para permitirles unirse a promotores y formar complejos de transcripción importantes desde el punto de vista fisiológico; estas proteínas se denominan:
 A. Factores de transcripción basales o generales.
 B. Activadores.
 C. Factores accesorios.
 D. Factores de alargamiento.
 E. Polipéptidos facilitadores.

31. El segmento de DNA a partir del cual el transcrito primario es copiado o transcrito se llama:
 A. Región codificadora.
 B. Dominio de metionina iniciador.
 C. Unidad de traducción.
 D. Transcriptoma.
 E. Codón inicial.

32. ¿Qué clase de DNA son los cistrones de rDNA eucarióticos?
 A. DNA de copia única.
 B. DNA altamente repetitivo.
 C. DNA moderadamente repetitivo.
 D. DNA de secuencia mixta.

33. Las modificaciones de los nucleótidos de los pre-tRNA, pre-rRNA y pre-mRNA ocurren:
 A. De manera posprandial.
 B. De manera posmitótica.
 C. De manera pretranscripcional.
 D. De manera postranscripcional.
 E. De modo prematuro.

34. Los promotores de la RNA polimerasa II están ubicados ¿en cuál lado de la unidad de transcripción?
 A. Interno.
 B. 3′.
 C. Más cerca del C terminal.
 D. Más cerca del N terminal.
 E. 5′.

35. Respecto a los mRNA eucarióticos, una de las que sigue no es una propiedad normal de los mRNA.
 A. Los mRNA eucarióticos tienen modificaciones especiales en sus terminales 5′ (capucha o casquete) y 3′ (cola poli[A]).
 B. Están fijos a ribosomas cuando son traducidos.
 C. Se encuentran en el citoplasma dentro de peroxisomas.
 D. Casi todos tienen un segmento no codificador importante que no dirige el montaje de aminoácidos.
 E. Contienen secuencias de nucleótido continuas que codifican para un polipéptido particular.

36. El enlace que conecta el nucleótido de inicio del mRNA con la estructura capucha o casquete 5^{me}-G es un:
 A. Puente 3′-5′ fosfodiéster.
 B. Puente 5′-5′ trifosfato.
 C. Puente 3′-3′ trifosfato.
 D. Puente 3′-5′ trifosfato.
 E. Puente 5′-3′ trifosfato.

37. ¿Cuál característica de secuencia de los mRNA maduros de las listadas a continuación se cree que protege a los mRNA contra degradación?
 A. Modificaciones postraduccionales especiales.
 B. Cola 3′ $poli(C)_n$.
 C. Capucha o casquete 5^{me}-G.
 D. Intrones.
 E. Estructuras lazo.

38. ¿Cuáles podrían ser las consecuencias del empalme de mRNA inexacto para el RNA?
 A. Un error de base único en una unión de empalme causará una deleción grande.
 B. Un error de base único en una unión de empalme causará una inserción grande.
 C. Un error de base único en una unión de empalme causará una inversión grande.
 D. C y E.
 E. Un error de base único en una unión de empalme cambiará el marco de lectura y dará lugar a traducción errónea de mRNA.

39. ¿Cuál es el complejo macromolecular que se asocia con intrones durante el empalme del mRNA?
 A. Empalmador.
 B. Dicer.
 C. Cuerpo nuclear.
 D. Espliceosoma.
 E. Rebanador.

40. ¿Cuál reacción cataliza la transcriptasa inversa?
 A. Traducción de RNA hacia DNA.
 B. Transcripción de DNA hacia RNA.
 C. Conversión de ribonucleótidos hacia desoxirribonucleótidos.
 D. Transcripción de RNA hacia DNA.
 E. Conversión de un ribonucleótido en desoxinucleótidos en la doble hélice de DNA.

41. La interferencia de RNA mediada por RNAi o dsRNA media:
 A. Ligadura de RNA.
 B. Silenciamiento de RNA.
 C. Inversión de RNA.
 D. Restauración de RNA.
 E. Aplastamiento de RNA.

42. Mientras que el código genético tiene 64 codones, sólo hay 20 aminoácidos que ocurren de modo natural. En consecuencia, algunos aminoácidos están codificados por más de un codón. Esta característica del código genético es una ilustración de que el código genético es:
    A. Degenerado.
    B. Duplicitivo.
    C. Sin superposición.
    D. Con superposición.
    E. Redundante.

43. ¿Cuántos codones de terminación contiene el código genético?
    A. 3.
    B. 21.
    C. 61.
    D. 64.
    E. 20.

44. Si un tRNA tiene la secuencia 5′-CAU-3′, ¿que codón reconocería (ignorar la formación de pares de base tambaleantes)?
    A. 3′-UAC-5′.
    B. 3′-AUG-5′.
    C. 5′-ATG-3′.
    D. 5′-AUC-3′.
    E. 5′-AUG-3′.

45. ¿Qué hay en el extremo 3′ de todos los tRNA maduros, funcionales?
    A. El asa en hoja de trébol.
    B. El anticodón.
    C. La secuencia CCA.
    D. El codón.

46. Casi todas las aminoacil-tRNA sintetasas poseen una actividad que es compartida con DNA polimerasas; esta actividad es una función de:
    A. Corrección de pruebas.
    B. Hidrólisis.
    C. Proteolítica.
    D. Helicasa.
    E. Endonucleolítica.

47. Las tres fases distintas de la síntesis de proteína, en el orden CORRECTO, son:
    A. Inicio, terminación, alargamiento.
    B. Terminación, inicio, alargamiento.
    C. Inicio, alargamiento, terminación.
    D. Alargamiento, inicio, terminación.
    E. Alargamiento, terminación, inicio.

48. ¿Cuál aminoácido es el aminoácido iniciador para todas las proteínas?
    A. Cisteína.
    B. Treonina.
    C. Triptófano.
    D. Metionina.
    E. Ácido glutámico.

49. El tRNA iniciador está colocado dentro del complejo 80S activo ¿en cuál de los tres "sitios" ribosomales canónicos durante la síntesis de proteína?
    A. Sitio E.
    B. Sitio I.
    C. Sitio P.
    D. Sitio A.
    E. Sitio de unión a factor liberador.

50. Nombre la enzima que forma el enlace peptídico durante la síntesis de proteína, y defina su composición química.
    A. Pepsintasa, proteína.
    B. Peptidil transferasa, RNA.
    C. Peptidasa, glucolípido.
    D. Peptidil transferasa, proteína.
    E. GTPasa, glucopéptido.

51. Las mutaciones en la parte media de un marco de lectura abierto que crean un codón de detención se llaman:
    A. Mutación por cambio de cuadro.
    B. Mutación de sentido erróneo.
    C. Mutación no sin sentido.
    D. Mutación puntual.
    E. Mutación sin sentido.

52. ¿Cuál es la direccionalidad de la síntesis de polipéptido?
    A. Dirección C terminal a N terminal.
    B. Dirección N terminal a 3′.
    C. Dirección N terminal a C terminal.
    D. Dirección 3′ a 5′.
    E. Dirección 5′ a 3′.

53. ¿Cuál de los elementos de acción *cis* que siguen típicamente reside adyacente a muchos promotores procariontes o se superpone con estos últimos?
    A. Gen regulador.
    B. Gen(es) estructural(es).
    C. Represor.
    D. Operador.
    E. Terminador.

54. ¿Cuál es el término que se aplica a un segmento de un cromosoma bacteriano donde los genes que codifican para las enzimas de una vía metabólica particular están agrupados y sujetos a control coordinado?
    A. Operón.
    B. Operador.
    C. Promotor.
    D. Controlador terminal.
    E. Origen.

55. ¿Cuál es el término que se aplica al conjunto completo de proteínas presentes en un tipo de célula particular?
    A. Genoma.
    B. Colección de péptidos.
    C. Transcriptoma.
    D. Translatoma.
    E. Proteoma.

56. ¿De qué modo la formación de nucleosoma en el DNA genómico afecta la fase de inicio, o de alargamiento, o ambas, de la transcripción?
    A. Los nucleosomas inhiben el acceso de enzimas involucradas en todas las fases de la transcripción.
    B. Los nucleosomas reclutan enzimas modificadoras de histona y DNA, y las acciones de estas enzimas reclutadas afectan el acceso de proteínas de la transcripción a DNA.
    C. Los nucleosomas inducen degradación de DNA donde el DNA tiene contacto con las histonas.
    D. Los nucleosomas no tienen efectos importantes sobre la transcripción.

57. ¿Qué tipos de moléculas interactúan con sitios promotores centrales de gen que codifica para mRNA eucariótico para facilitar la asociación de RNA polimerasa II?
    A. Factores de terminación.
    B. Factores de transcripción específicos para secuencia (transactivadores).
    C. Factores de alargamiento.
    D. GTPasas.
    E. Factores de transcripción generales, o basales (es decir, los GTF).

58. Casi todos los factores de transcripción eucarióticos contienen al menos dos dominios, cada uno de los cuales media diferentes aspectos de la función de factor de transcripción; estos dominios son:
    A. Dominio de unión a RNA y dominio de represión.
    B. Dominio de activación y dominio de represión.
    C. Dominio de unión a DNA y dominio de activación.
    D. Dominio de unión a DNA y dominio de unión a ligando.
    E. Dominio de unión a RNA y el dominio de activación.

59. Los factores de transcripción unidos a aumentadores estimulan el inicio de la transcripción en el promotor central enlazado a *cis* por medio de la acción de intermediarios llamados:
    A. Coactivadores.
    B. Proteínas de cotranscripción.
    C. Correpresores.
    D. Receptores.
    E. Coordinadores.

60. ¿Cuáles reacciones entre proteínas de transcripción expanden mucho la diversidad de factores reguladores que pueden ser generados a partir de un pequeño número de polipéptidos?
    A. Recombinación.
    B. Homodimerización.
    C. Heterocigosidad.
    D. Heterodimerización.
    E. Trimerización.

61. La región del gen que contiene la secuencia TATA y que se extiende al sitio de inicio de la transcripción (TSS) a menudo se llama:
    A. Casa de polimerasa.
    B. Iniciador.
    C. Selector de inicio.
    D. Promotor central.
    E. Operador.

62. ¿Cuál de los mecanismos posibles que siguen para la manera en que los aumentadores pueden estimular la transcripción desde grandes distancias en la actualidad se cree que es CORRECTO?
    A. Los aumentadores pueden escindir de manera reversible el DNA interpuesto entre aumentadores y promotores.
    B. La RNA polimerasa II se une ávidamente a secuencias aumentadoras.
    C. Los aumentadores desenrollan DNA.
    D. Los aumentadores pueden buscar en el DNA y unirse de manera directa al promotor central asociado.
    E. Los aumentadores y los promotores centrales son llevados hacia estrecha proximidad por medio de la formación de asa de DNA mediada por proteínas de unión a DNA.

63. ¿Cuáles de los aminoácidos de histona que siguen típicamente están acetilados?
    A. Lisina.
    B. Arginina.
    C. Asparagina.
    D. Histidina.
    E. Leucina.

64. Coloque en orden los pasos que siguen; ¿cuáles son los pasos que ocurren de manera secuencial durante un evento de activación de la transcripción después de la unión de un activador transcripcional a su sitio de unión activador cognado en el DNA genómico?

    1. El complejo remodelador de cromatina se une a las histonas centrales en la región blanco.
    2. Las acciones combinadas de los diversos complejos moleculares aumentan la accesibilidad del promotor a la maquinaria transcripcional.
    3. El activador recluta un coactivador hacia una región de cromatina establecida como objetivo para transcripción.
    4. La maquinaria transcripcional se monta en el sitio donde se iniciará la transcripción.
    5. El coactivador acetila las histonas centrales de nucleosomas cercanos.

    A. 1 – 2 – 3 – 4 – 5.
    B. 3 – 1 – 5 – 2 – 4.
    C. 3 – 5 – 1 – 2 – 4.
    D. 5 – 3 – 1 – 2 – 4.
    E. 3 – 5 – 1 – 4 – 2.

65. ¿Qué estrategia en la investigación de factor de transcripción permite la identificación simultánea de todos los sitios genómicos unidos por un factor de transcripción dado bajo un determinado grupo de condiciones fisiológicas y, por ende, permite obtener información sobre cómo las redes de transcripción de gen están reguladas de modo coordinado?
    A. Mapeo de deleción sistemático.
    B. Sensibilidad de DNAasa I.
    C. Inmunoprecipitación de cromatina (ChIP).
    D. FISH.
    E. Microscopia de obtención de imágenes durante toda la vida de fluorescencia.

66. ¿Cuáles secuencias se extienden entre la cubierta de 5-metilguanosina presente sobre mRNA eucariótico hacia el codón de inicio AUG?
    A. Codón de paro.
    B. Último exón.
    C. Último intrón.
    D. UTR 3′.
    E. UTR 5′.

67. ¿Cuál de las características que siguen del mRNA eucariótico contribuyen de manera importante a la vida media del mensaje?
    A. Secuencias UTR 5′.
    B. El promotor.
    C. El operador.
    D. UTR 3′ y cola poli(A).
    E. El primer intrón.



CAPÍTULO

41

La diversidad del sistema endocrino

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar los principios básicos de la acción de hormonas endocrinas, incluso los determinantes de la respuesta de células blanco de hormonas, y los determinantes de la concentración de hormona en células blanco.
- Entender la amplia diversidad y los mecanismos de acción de las hormonas endocrinas.
- Apreciar los pasos complejos involucrados en la producción, el transporte y el almacenamiento de hormonas.

ACTH	hormona adrenocorticotrópica	**IGF-1**	factor de crecimiento parecido a la insulina-1
ANF	factor natriurético auricular	**LH**	hormona luteotrópica
cAMP	monofosfato de adenosina cíclico	**LPH**	lipotropina
CBG	globulina de unión a corticosteroide	**MIT**	monoyodotirosina
CG	gonadotropina coriónica	**MSH**	hormona estimulante de melanocitos
cGMP	monofosfato de guanosina cíclico	**OHSD**	hidroxiesteroide deshidrogenasa
CLIP	péptido del lóbulo intermedio parecido a corticotropina	**PNMT**	feniletanolamina-*N*-metiltransferasa
DBH	dopamina β-hidroxilasa	**POMC**	pro-opiomelanocortina
DHEA	dehidroepiandrosterona	**SHBG**	globulina de unión a hormona sexual
DHT	dihidrotestosterona	**StAR**	(proteína) reguladora aguda esteroidogénica
DIT	diyodotirosina	**TBG**	globulina de unión a tiroxina
DOC	desoxicorticosterona	**TEBG**	globulina de unión a testosterona-estrógeno
EGF	factor de crecimiento epidérmico	**TRH**	hormona liberadora de tirotropina
FSH	hormona estimulante del folículo	**TSH**	hormona estimulante de la tiroides
GH	hormona de crecimiento		

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La supervivencia de los organismos multicelulares depende de su capacidad para adaptarse a un ambiente en cambio constante. Los mecanismos de comunicación intercelular son necesarios para esta adaptación. Los sistemas nervioso y endocrino proporcionan esta comunicación intercelular en el organismo. En un inicio se consideró que el sistema nervioso proporcionaba un sistema de comunicación fijo, mientras que el endocrino proveía hormonas, que son mensajes móviles; en realidad, hay una notoria convergencia de estos sistemas reguladores. Por ejemplo, la regulación neural del sistema endocrino es importante en la producción y secreción de algunas hormonas; muchos neurotransmisores semejan hormonas en su síntesis, transporte y mecanismo de acción, y muchas hormonas se sintetizan en el sistema nervioso. La palabra "hormona" se deriva de un término griego que significa "despertar a la actividad"; como se define clásicamente, una hormona es una sustancia que se sintetiza en un órgano y el sistema circulatorio la transporta para que actúe sobre otro tejido. Sin embargo, esta descripción original es demasiado restrictiva porque las hormonas pueden actuar sobre células adyacentes (acción paracrina) y sobre la célula en la cual se sintetizaron (acción autocrina) sin entrar en la circulación sistémica. Una diversa gama de hormonas —cada una con mecanismos de acción y propiedades de biosíntesis, almacenamiento, secreción, transporte y metabolismo distintivos— ha evolucionado para proporcionar respuestas homeostáticas. Esta diversidad bioquímica es el tema de este capítulo.

CONCEPTO DE CÉLULA BLANCO

Hay alrededor de 200 tipos de células diferenciadas en los seres humanos. Sólo algunas producen hormonas, pero la mayor parte de los 75 billones de células en una persona son blancos para una o más de las más de 50 hormonas conocidas. El concepto de la célula blanco es un modo útil de analizar la acción hormonal.

CUADRO 41–1 Determinantes de la concentración de una hormona en la célula blanco

El índice de síntesis y secreción de las hormonas.
La proximidad de la célula blanco a la fuente de hormona (efecto de dilución).
Las constantes de disociación de la hormona con proteínas de transporte en el plasma específicas (si hay alguna).
La conversión de formas inactivas o con actividad menos que óptima de la hormona hacia la forma por completo activa.
El índice de depuración desde el plasma por otros tejidos o por digestión, metabolismo o excreción.

CUADRO 41–2 Determinantes de la respuesta de la célula blanco

El número, la actividad relativa, y el estado de ocupación de los receptores específicos sobre la membrana plasmática o en el citoplasma o el núcleo.
El metabolismo (activación o desactivación) de la hormona en la célula blanco.
La presencia de otros factores dentro de la célula necesarios para la respuesta de la hormona.
Una regulación ascendente o descendente del receptor consiguiente a la interacción con el ligando.
Desensibilización de la célula después de receptor, incluso regulación descendente del receptor.

Se creía que las hormonas afectaban a un solo tipo de célula —o tan sólo a algunos tipos de células— y que una hormona desencadenaba una acción bioquímica o fisiológica singular. Ahora se sabe que una hormona dada puede afectar diferentes tipos de células, que más de una hormona es capaz de afectar a un tipo dado de célula, y que las hormonas pueden ejercer muchos efectos distintos en una célula o en diferentes células. Con el descubrimiento de receptores hormonales de superficie celular e intracelulares específicos, la definición de un blanco se ha expandido para incluir cualquier célula en la cual la hormona (ligando) se une a su receptor, se haya determinado o no una respuesta bioquímica o fisiológica. Varios factores determinan la respuesta de una célula blanco a una hormona, mismos que se consideran de una de dos maneras generales: 1) como factores que afectan la concentración de la hormona en la célula blanco (**cuadro 41-1**) y 2) como factores que afectan la respuesta real de la célula blanco a la hormona (**cuadro 41-2**).

LOS RECEPTORES HORMONALES TIENEN IMPORTANCIA FUNDAMENTAL

Los receptores discriminan con precisión

La **figura 41-1** ilustra uno de los principales desafíos que se enfrentan para hacer que funcione el sistema de comunicación basado en hormonas. Las hormonas están presentes a cifras muy bajas en el líquido extracelular, por lo general en el rango atomolar a nanomolar (10^{-15} a 10^{-9} mol/L). Esta concentración es mucho menor que la de las muchas moléculas que tienen estructura similar (esteroles, aminoácidos, péptidos y proteínas) y otras moléculas que circulan a concentraciones dentro del rango micromolar a milimolar (10^{-6} a 10^{-3} mol/L). En consecuencia, las células blanco deben distinguir no sólo entre diferentes hormonas presentes en pequeñas cantidades, sino también entre una hormona dada y el exceso de 10^{6} a 10^{9} veces de otras moléculas similares; este alto grado de discriminación es proporcionado por moléculas de reconocimiento asociadas a células denominadas receptores. Las hormonas inician sus efectos biológicos al unirse a receptores específicos, y dado que cualquier sistema de control eficaz también debe proporcionar un medio de suspender una respuesta, las acciones inducidas por hormonas a menudo terminan cuando el efector se disocia del receptor (figura 38-1; respuesta tipo A).

Una célula blanco se define por su capacidad para unir de modo selectivo una hormona dada a su receptor cognado. Varias características bioquímicas de esta interacción tienen importancia para que las interacciones entre hormona y receptor sean significativas desde el punto de vista fisiológico: 1) la unión debe ser específica, es decir, desplazable por agonista o antagonista; 2) la unión debe ser saturable, y 3) la unión debe ocurrir dentro del rango de concentración de la respuesta biológica esperada.

Los receptores tienen dominios tanto de reconocimiento como de acoplamiento

Todos los receptores tienen al menos dos dominios funcionales. Un dominio de reconocimiento se une al ligando hormonal, y una segunda región genera una señal que acopla el reconocimiento hormonal a alguna función intracelular. El acoplamiento (transducción de señal) sucede de dos maneras generales. Las hormonas polipeptídicas y proteínicas y las catecolaminas se unen a

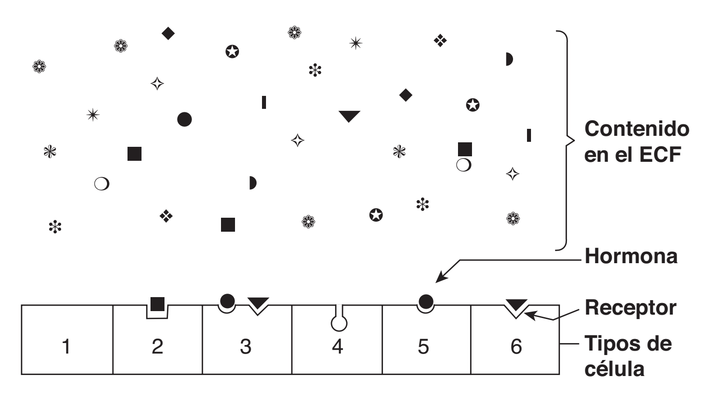


FIGURA 41–1 Especificidad y selectividad de receptores de hormona. Muchas moléculas diferentes circulan en el líquido extracelular (ECF), pero sólo algunas son reconocidas por receptores de hormona. Los receptores deben seleccionar estas moléculas de entre concentraciones altas de las otras moléculas. Este dibujo simplificado muestra que una célula puede carecer de receptores de hormona (1), tener un receptor (2+5+6), tener receptores para varias hormonas (3), o tener un receptor pero carecer de hormona en la vecindad (4).

receptores localizados en la membrana plasmática y, así, generan una señal que regula diversas funciones intracelulares, a menudo al cambiar la actividad de una enzima. En contraste, las hormonas esteroides, retinoides y tiroideas interactúan con receptores intracelulares, y es este complejo de ligando-receptor lo que proporciona de modo directo la señal, por lo general hacia genes específicos cuyo índice de transcripción queda afectado por ello.

En los receptores de hormona polipéptido proteína y catecolamina se han identificado los dominios que se encargan del reconocimiento de hormona y de la generación de señal. Los receptores de hormona esteroide, tiroidea y retinoide tienen varios dominios funcionales: un sitio se une a la hormona; otro se une a regiones de DNA específicas; un tercero participa en la interacción con otras proteínas correguladoras que dan por resultado la activación (o represión) de la transcripción de gen, y un cuarto puede especificar unión a una u otras más proteínas que influyen sobre el tráfico intracelular del receptor.

Las funciones dobles de unión y acoplamiento definen un receptor, y es el acoplamiento de la unión a hormona a transducción de señal —**acoplamiento receptor-efector**— lo que proporciona el primer paso en la amplificación de la respuesta hormonal. Asimismo, este propósito doble distingue entre el receptor de célula blanco y las proteínas acarreadoras plasmáticas que se unen a la hormona pero que no generan una señal (cuadro 41-6).

Los receptores son proteínas

Han sido identificadas varias clases de receptores de hormonas peptídicas; por ejemplo, el receptor de insulina es un heterotetrámero compuesto de dos copias de dos subunidades proteínicas diferentes ($\alpha_2\beta_2$) unidas por múltiples enlaces disulfuro en los cuales la subunidad α extracelular se une a la insulina, y la subunidad β que abarca la membrana transduce la señal por medio del dominio de tirosina proteína cinasa localizado en la parte citoplásmica de este polipéptido. Los receptores para el factor de crecimiento parecido a la insulina 1 (IGF-1) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) por lo general tienen estructura similar a la del receptor de insulina. Los receptores de hormona de crecimiento (GH) y prolactina también abarcan la membrana plasmática de células blanco pero no contienen actividad de proteína cinasa intrínseca. Empero, la unión de ligando a estos receptores origina la asociación y activación de una vía de emisión de señales proteína cinasa por completo diferente, la vía de Jak-Stat. Los receptores de hormona polipeptídica y catecolamina, que transducen señales al alterar el índice de producción de cAMP mediante proteínas G, se caracterizan por la presencia de siete dominios que abarcan la membrana plasmática. La activación de la proteína cinasa y la generación de AMP cíclico (cAMP, ácido 3′5′-adenílico; figura 19-5) es una acción torrente abajo de esta clase de receptor (el cap. 42 presenta detalles adicionales).

Una comparación de varios receptores de esteroide diferentes con los receptores de hormona tiroidea reveló una notoria conservación de la secuencia de aminoácidos en ciertas regiones, especialmente en los dominios de unión a DNA. Esto condujo a percatarse de que los receptores del tipo esteroide o tiroideos son miembros de una superfamilia grande de receptores nucleares. Muchos miembros relacionados de esta familia en la actualidad no tienen ligando conocido y, de esta manera, se denominan receptores huérfanos. La superfamilia de receptores nucleares tiene una función crucial en la regulación de la transcripción de gen por hormonas (cap. 42).

LAS HORMONAS PUEDEN CLASIFICARSE DE VARIOS MODOS

Las hormonas pueden clasificarse de acuerdo con la composición química, las propiedades de solubilidad, la localización de receptores, y la naturaleza de la señal usada para mediar acción hormonal dentro de la célula. El **cuadro 41-3** ilustra una clasificación basada en las dos últimas propiedades, y el **cuadro 41-4** expone las características generales de cada grupo.

Las hormonas en el grupo I son lipofílicas. Después de la secreción, estas hormonas se asocian con proteínas de transporte en el plasma o acarreadoras, proceso que sortea el problema de solubilidad mientras que prolonga la vida media plasmática de la hormona. Los porcentajes relativos de hormona unida y libre están determinados por la cantidad, la afinidad de unión y la capacidad de unión de la proteína de transporte. La hormona libre, que es la forma que tiene actividad biológica, cruza con facilidad la membrana plasmática lipofílica de todas las células, y encuentra receptores en el citosol o en el núcleo de células blanco. El complejo de ligando-receptor se supone que es el mensajero intracelular en este grupo.

El segundo grupo importante consta de hormonas hidrosolubles que se unen a receptores específicos de la membrana plasmática de la célula blanco. Las hormonas que se unen a estos receptores de superficie de células se comunican con procesos metabólicos intracelulares por medio de moléculas intermediarias llamadas **segundos mensajeros** (la hormona en sí es el primer mensajero), que se generan como consecuencia de la interacción entre ligando y receptor. El concepto de segundo mensajero surgió a partir de una observación de que la adrenalina se une a la membrana plasmática de ciertas células y aumenta el cAMP intracelular. Esto fue seguido por una serie de experimentos en los cuales se encontró que el cAMP media los efectos de muchas hormonas. Las hormonas que emplean claramente este mecanismo se muestran en el grupo II.A del cuadro 41-3. El factor natriurético auricular (ANF) usa cGMP como su segundo mensajero (grupo II.B). Varias hormonas, muchas de las cuales en el pasado se creía que afectaban el cAMP, parecen usar calcio iónico (Ca^{2+}) o metabolitos de fosfoinositidas complejas (o ambos) como la señal del segundo mensajero intracelular; éstas se muestran en el grupo II.C del cuadro. El mensajero intracelular para el grupo II.D son cascadas de proteína cinasa-fosfatasa; se han identificado varias y una hormona dada puede usar más de una cascada de cinasa. Algunas hormonas caen dentro de más de una categoría, y las asignaciones cambian a medida que se descubre nueva información.

DIVERSIDAD DEL SISTEMA ENDOCRINO

Las hormonas se sintetizan en diversos arreglos celulares

Las hormonas se sintetizan en órganos separados designados sólo para este propósito específico, como la tiroides (triyodoti-

CUADRO 41–3 Clasificación de las hormonas por mecanismo de acción

I. *Hormonas que se unen a receptores intracelulares*
Andrógenos Calcitriol (1,25[OH]$_2$-D$_3$) Estrógenos Glucocorticoides Mineralocorticoides Progestinas Ácido retinoico Hormonas tiroideas (T_3 y T_4)
II. *Hormonas que se unen a receptores de superficie celular* **A. El segundo mensajero es cAMP**
Catecolaminas α_2-adrenérgicas Catecolaminas β-adrenérgicas Hormona adrenocorticotrópica (ACTH) Hormona antidiurética Calcitonina Gonadotropina coriónica humana (CG) Hormona liberadora de corticotropina Hormona estimulante del folículo (FSH) Glucagón Lipotropina (LPH) Hormona luteinizante (LH) Hormona estimulante de melanocitos (MSH) Hormona paratiroidea (PTH) Somatostatina Hormona estimulante de la tiroides (TSH)
B. El segundo mensajero es cGMP
Factor natriurético auricular Óxido nítrico
C. El segundo mensajero es calcio o fosfatidilinositoles (o ambos)
Acetilcolina (muscarínica) Catecolaminas α_1-adrenérgicas Angiotensina II Hormona antidiurética (vasopresina) Colecistocinina Gastrina Hormona liberadora de gonadotropina Oxitocina Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) Sustancia P Hormona liberadora de tirotropina (TRH)
D. El segundo mensajero es una cascada de cinasa o fosfatasa
Adiponectina Somatomamotropina coriónica Factor de crecimiento epidérmico Eritropoyetina Factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) Hormona de crecimiento (GH) Insulina Factores de crecimiento parecidos a la insulina 1 y 2 Leptina Factor de crecimiento de nervios (NGF) Factor de crecimiento derivado de las plaquetas Prolactina

CUADRO 41–4 Características generales de las clases de hormona

	Grupo I	Grupo II
Tipos	Esteroides, yodotironinas, calcitriol, retinoides	Polipéptidos, proteínas, glucoproteínas, catecolaminas
Solubilidad	Lipofílico	Hidrofílico
Proteínas de transporte	Sí	No
Vida media en el plasma	Prolongada (horas a días)	Breve (minutos)
Receptor	Intracelular	Membrana plasmática
Mediador	Complejo de receptor-hormona	cAMP, cGMP, Ca^{2+}, metabolitos de fosfoinositoles complejos, cascadas de cinasa

ronina), las suprarrenales (glucocorticoides y mineralocorticoides), y la hipófisis (TSH, FSH, LH, GH, prolactina, ACTH). Algunos órganos están diseñados para desempeñar dos funciones distintas pero estrechamente relacionadas. Por ejemplo, los ovarios producen oocitos maduros y las hormonas de la reproducción, estradiol y progesterona. Los testículos producen espermatozoides maduros y testosterona. Las hormonas también se producen en células especializadas dentro de otros órganos, como el intestino delgado (péptido parecido a glucagón), la tiroides (calcitonina) y los riñones (angiotensina II). Finalmente, la síntesis de algunas hormonas requiere las células parenquimatosas de más de un órgano; por ejemplo, la piel, el hígado y los riñones se necesitan para la producción de 1,25(OH)$_2$-D$_3$ (calcitriol). A continuación se comentan los ejemplos de esta diversidad en el método para la síntesis de hormona, cada uno de los cuales ha evolucionado para satisfacer un propósito específico.

Hormonas químicamente diversas

Las hormonas se sintetizan a partir de una amplia variedad de bloques de construcción químicos. Una serie grande se deriva del colesterol; éstas incluyen los glucocorticoides, mineralocorticoides, estrógenos, progestinas y 1,25(OH)$_2$-D$_3$ (**figura 41-2**). En algunos casos, una hormona esteroide es la molécula precursora para otra hormona. Por ejemplo, la progesterona es una hormona por derecho propio, pero también es un precursor en la formación de glucocorticoides, mineralocorticoides, testosterona y estrógenos. La testosterona es un intermediario obligatorio en la biosíntesis de estradiol y en la formación de dihidrotestosterona (DHT). En estos ejemplos, que se describen con detalle más adelante, el producto final está determinado por el tipo de célula y por el juego de enzimas asociado en el cual existe el precursor.

El aminoácido tirosina es el punto de inicio en la síntesis de las catecolaminas y de las hormonas tiroideas tetrayodotironina (tiroxina; T_4) y triyodotironina (T_3) (figura 41-2). La T_3 y T_4 son singulares por cuanto requieren la adición de yodo (como I^-) para tener bioactividad. Puesto que el yodo en la dieta es muy escaso en muchas partes del mundo, se ha adquirido por evolución un mecanismo intrincado para acumular y retener I^-.

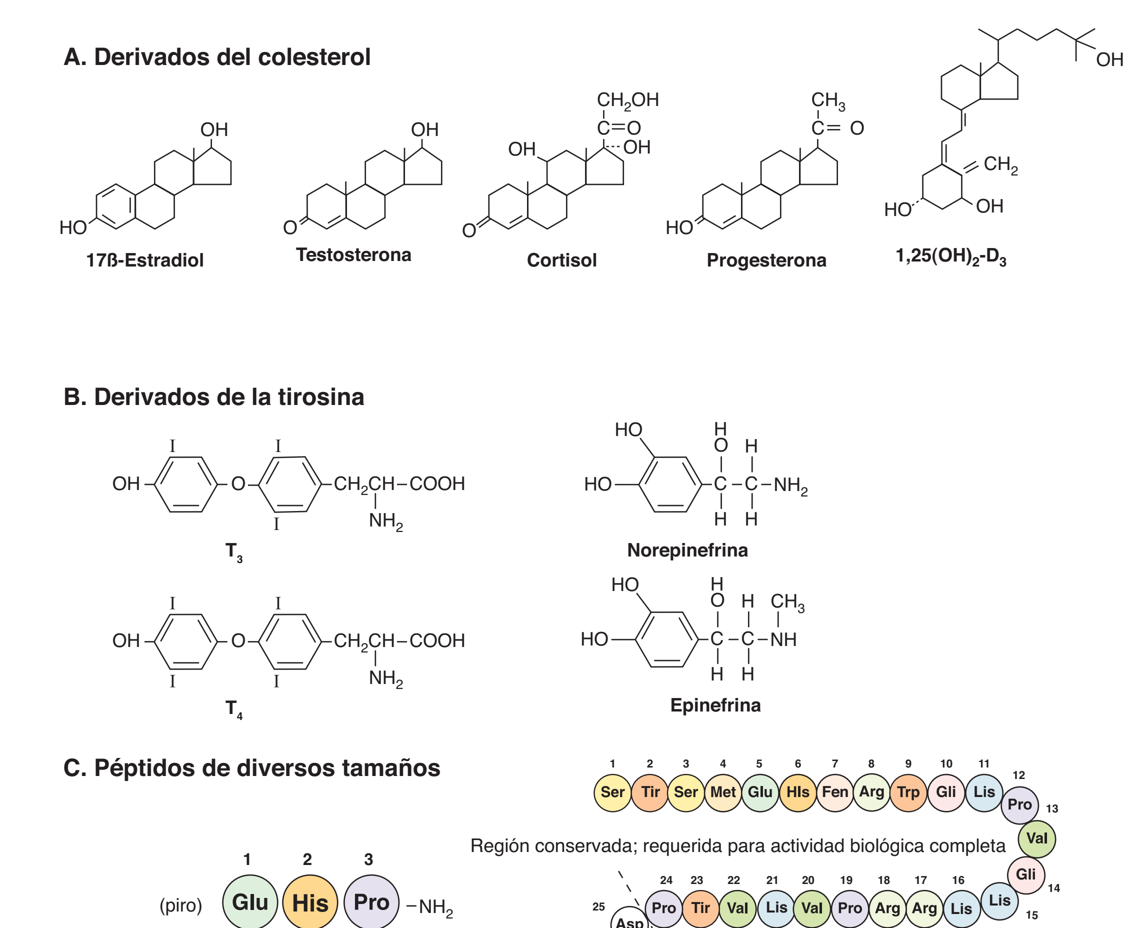


FIGURA 41–2 **Diversidad química de las hormonas. A) Derivados del colesterol. B) Derivados de la tirosina. C) Péptidos de diversos tamaños. D) Glucoproteínas (TSH, FSH, LH) con subunidades α comunes y subunidades β únicas.**

Muchas hormonas son polipéptidos o glucoproteínas, las cuales varían de tamaño desde la pequeña hormona liberadora de tirotropina (TRH), un tripéptido, hasta polipéptidos de cadena única como la hormona adrenocorticotrópica (ACTH; 39 aminoácidos), hormona paratiroidea (PTH; 84 aminoácidos) y GH (191 aminoácidos) (figura 41-2). La insulina es un heterodímero de cadena AB de 21 y 30 aminoácidos, respectivamente. La hormona estimulante del folículo (FSH), la hormona luteinizante (LH), la hormona estimulante de la tiroides (TSH), y la gonadotropina coriónica (CG) son hormonas glucoproteínicas de estructura heterodimérica αβ. La cadena α es idéntica en todas estas hormonas, y las cadenas β distintas imparten la singularidad hormonal. Estas hormonas tienen una masa molecular dentro del rango de 25 a 30 kDa dependiendo del grado de glucosilación y de la longitud de la cadena β.

Las hormonas se sintetizan y modifican de diversas maneras para tener actividad completa

Algunas hormonas se sintetizan en forma final y se secretan de inmediato; esta clase comprende las hormonas derivadas del colesterol. Algunas, como las catecolaminas, se sintetizan en forma final y se almacenan en las células productoras. Otras, como la insulina, se sintetizan a partir de moléculas precursoras en la célula productora, y luego se procesan y secretan en presencia de un indicio fisiológico (cifras de glucosa en plasma). Por último, otras se convierten en formas activas a partir de moléculas precursoras en la periferia (T_3 y DHT). Todos estos ejemplos se comentan con mayor detalle a continuación.

FIGURA 41–3 División de cadena lateral de colesterol y estructuras de hormona esteroide básicas. Los anillos esterol básicos se identifican mediante las letras A-D. Los átomos de carbono se numeran del 1 al 21, empezando en el anillo A.

MUCHAS HORMONAS SE SINTETIZAN A PARTIR DEL COLESTEROL

Esteroidogénesis suprarrenal

Las hormonas esteroides suprarrenales se sintetizan a partir del colesterol, el cual se deriva en su mayor parte del plasma, pero una pequeña porción se sintetiza *in situ* a partir de la acetil-CoA mediante mevalonato y escualeno. Gran parte del colesterol en las suprarrenales se esterifica y almacena en gotitas de lípido citoplásmicas. En el momento de estimulación de las suprarrenales por la ACTH, se activa una esterasa, y el colesterol libre que se forma se transporta hacia la mitocondria, donde una **enzima de división de cadena lateral citocromo P450** (**P450scc**) convierte el colesterol en pregnenolona. La división de la cadena lateral comprende hidroxilaciones secuenciales, primero en C_{22} y después en C_{20}, seguidas por la división de cadena lateral (eliminación del fragmento de seis carbonos isocaproaldehído) para dar el esteroide de 21 carbonos (**figura 41-3**, arriba). Una **proteína reguladora aguda esteroidogénica** (**StAR**) dependiente de ACTH es esencial para el transporte de colesterol hacia la P450scc en la membrana mitocondrial interna.

Todas las hormonas esteroides de mamífero se forman a partir de colesterol por medio de la pregnenolona mediante una serie de reacciones que ocurren en las mitocondrias o en el retículo endoplásmico de la célula productora. Las hidroxilasas que necesitan oxígeno molecular y NADPH son esenciales, y las deshidrogenasas, una isomerasa, y una reacción de liasa, también son necesarias para ciertos tipos. Hay especificidad celular en la esteroidogénesis suprarrenal; por ejemplo, la 18-hidroxilasa y la 19-hidroxiesteroide deshidrogenasa, que se requieren para la síntesis de aldosterona, sólo se encuentran en las células de la zona glomerulosa (la región externa de la corteza suprarrenal), de modo que la biosíntesis de este mineralocorticoide se confina a esta región. La **figura 41-4** muestra una representación esquemática de las vías involucradas en la síntesis de las tres clases principales de esteroides suprarrenales. Las enzimas se muestran en los cuadros rectangulares, y las modificaciones en cada paso están sombreadas.

Síntesis de mineralocorticoide

La síntesis de aldosterona sigue la vía de mineralocorticoide y sucede en la zona glomerulosa. La pregnenolona se convierte en progesterona por medio de la acción de dos enzimas del retículo endoplásmico liso, la **3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa** (**3β-OHSD**) y **$\Delta^{5,4}$-isomerasa**. La progesterona se hidroxila en la posición C_{21} para formar 11-desoxicorticosterona (DOC), que es un mineralocorticoide activo (que retiene Na^+). La siguiente hidroxilación, en C_{11}, produce corticosterona, que tiene actividad de glucocorticoide y es un mineralocorticoide débil (tiene menos de 5% de la potencia de la aldosterona). En algunas especies (p. ej., roedores) es el glucocorticoide más potente. La hidroxilación de C_{21} se necesita para la actividad tanto de mineralocorticoide como de glucocorticoide, pero casi todos los esteroides con un grupo hidroxilo C_{17} tienen más acción glucocorticoide y menos acción mineralocorticoide. En la zona glomerulosa, que carece de la enzima 17α-hidroxilasa del retículo endoplásmico liso, hay una 18-hidroxilasa mitocondrial. La **18-hidroxilasa** (**aldosterona sintasa**) actúa sobre la corticosterona para formar 18-hidroxicorticosterona, que se cambia a aldosterona mediante conversión del alcohol 18 en un aldehído.

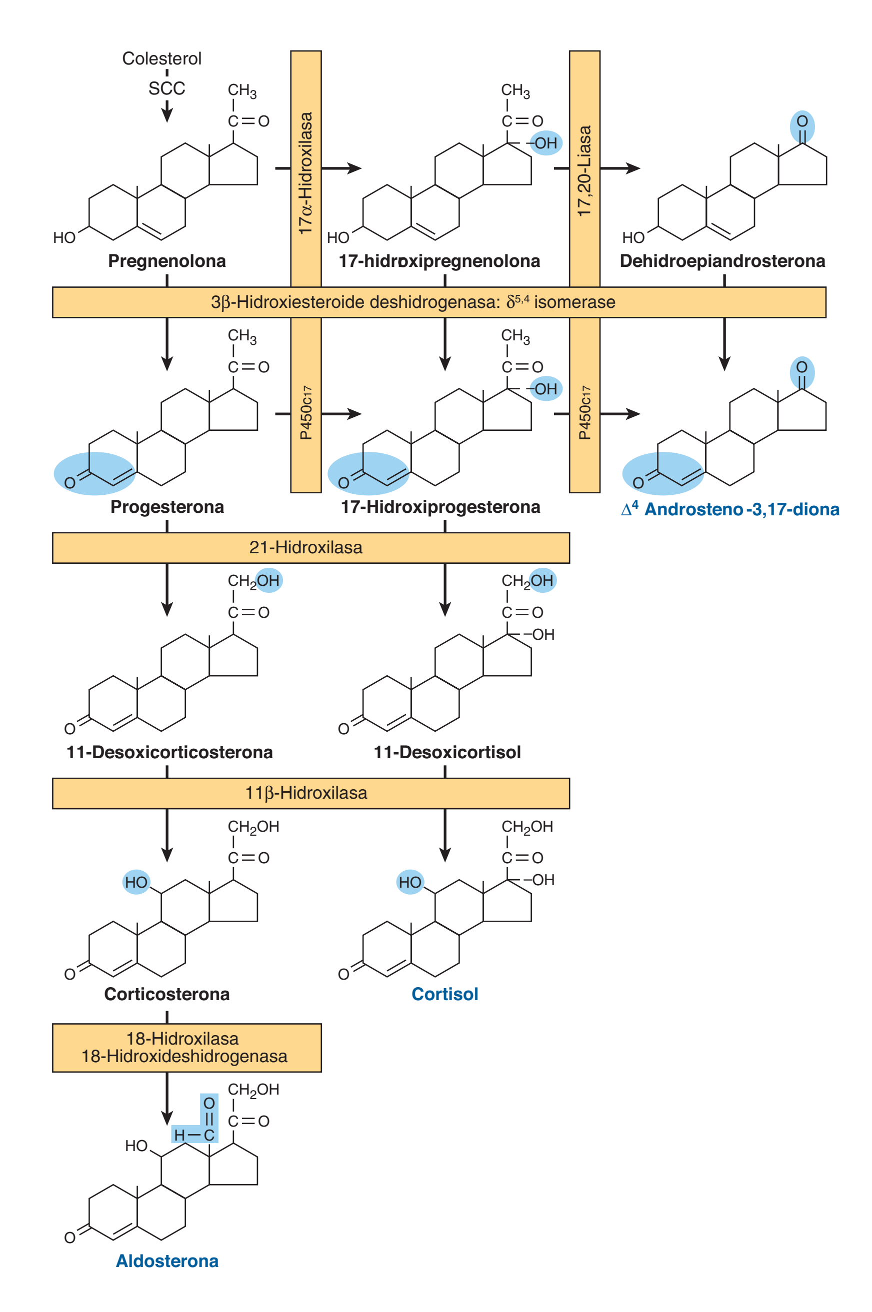


FIGURA 41–4 Vías comprendidas en la síntesis de las tres clases principales de esteroides suprarrenales (mineralocorticoides, glucocorticoides y andrógenos). Las enzimas se muestran en los rectángulos y las modificaciones en cada paso están sombreadas. Note que las actividades de la 17 α-hidroxilasa y 17,20-liasa forman parte de una enzima, designada P450c17. (Parcialmente modificada y reproducida, con autorización, de Harding BW: En: *Endocrinology*, vol 2. DeGroot LJ [editor]. Grune & Stratton, 1979. Copyright © 1979 Elsevier Inc. Reimpresa con autorización de Elsevier.)

Esta distribución singular de enzimas, y la regulación especial de la zona glomerulosa por K^+ y angiotensina II, han llevado a algunos investigadores a sugerir que, además de que las suprarrenales son dos glándulas, la corteza suprarrenal de hecho son dos órganos separados.

Síntesis de glucocorticoide

La síntesis de cortisol requiere tres hidroxilasas ubicadas en las zonas fasciculada y reticular de la corteza suprarrenal que actúan secuencialmente sobre las posiciones C_{17}, C_{21} y C_{11}. Las primeras dos reacciones son rápidas, mientras que la hidroxilación de C_{11} es relativamente lenta. Si la posición C_{11} se hidroxila primero, la acción de la **17α-hidroxilasa** queda obstaculizada, y se sigue la vía de mineralocorticoide (lo que forma corticosterona o aldosterona, dependiendo del tipo de célula). La 17α-hidroxilasa es una enzima del retículo endoplásmico liso que actúa sobre la progesterona o, con mayor frecuencia, sobre la pregnenolona. La 17α-hidroxiprogesterona se hidroxila en C_{21} para formar 11-desoxicortisol, que a continuación se hidroxila en C_{11} para formar cortisol, la hormona glucocorticoide natural más potente en seres humanos. La 21-hidroxilasa es una enzima del retículo endoplásmico liso, mientras que la 11β-hidroxilasa es una enzima mitocondrial. De esta manera, la esteroidogénesis involucra el transborde repetido de sustratos hacia adentro y hacia afuera de las mitocondrias.

Síntesis de andrógeno

El principal andrógeno o precursor de andrógeno producido por la corteza suprarrenal es la DHEA (dehidroepiandrosterona). Casi toda la 17-hidroxipregnenolona sigue la vía de los glucocorticoides, pero una pequeña fracción queda sujeta a fisión oxidativa y eliminación de la cadena lateral de dos carbonos por medio de la acción de la 17,20-liasa. La actividad de liasa en realidad forma parte de la misma enzima (P450c17) que cataliza la

17 α-hidroxilación. Por ende, ésta es una **proteína de función doble**. La actividad de liasa tiene importancia tanto en las suprarrenales como en las gónadas, y actúa de modo exclusivo sobre moléculas que contienen 17 α-hidroxi. La producción de andrógenos en las suprarrenales se incrementa de manera notoria si la biosíntesis de glucocorticoide queda obstaculizada por la falta de una de las hidroxilasas (**síndrome adrenogenital**). La DHEA de hecho es una prohormona, dado que las acciones de la 3β-OHSD y de la $\Delta^{5,4}$-isomerasa convierten el andrógeno débil DHEA en la **androstenediona**, que es más potente. Asimismo, se forman pequeñas cantidades de androstenediona en las suprarrenales mediante la acción de la liasa sobre la 17α-hidroxiprogesterona. La disminución de la androstenediona en la posición C_{17} da por resultado la formación de **testosterona**, el andrógeno suprarrenal más potente. Pequeñas cantidades de testosterona se producen en las suprarrenales por medio de este mecanismo, pero la mayor parte de esta conversión ocurre en los testículos.

Esteroidogénesis testicular

Los andrógenos testiculares se sintetizan en el tejido intersticial por las células de Leydig. El precursor inmediato de los esteroides gonadales, al igual que para los esteroides suprarrenales, es el colesterol. El paso limitante, al igual que en las suprarrenales, es el aporte de colesterol a la membrana interna de las mitocondrias mediante la proteína de transporte StAR. Una vez que el colesterol se encuentra en la ubicación apropiada, la enzima de división de cadena lateral P450scc actúa sobre él. La conversión de colesterol en pregnenolona es idéntica en las suprarrenales, los ovarios y los testículos. Con todo, en estos dos últimos tejidos la reacción es promovida por la LH más que por la ACTH.

La conversión de pregnenolona en testosterona necesita la acción de cinco actividades enzimáticas contenidas en tres proteínas: 1) 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β-OHSD) y $\Delta^{5,4}$-isomerasa; 2) 17α-hidroxilasa y 17,20-liasa, y 3) 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (17β-OHSD). Esta secuencia se denomina vía de la **progesterona** (**o Δ^4**) (**figura 41-5**, lado derecho). La pregnenolona también puede convertirse en testosterona por la vía de la **dehidroepiandrosterona** (o **Δ^5**) (figura 41-5, lado izquierdo). La ruta Δ^5 parece ser la más usada en los testículos del ser humano.

Las cinco actividades enzimáticas están localizadas en la fracción microsómica en los testículos de rata, y hay un estrecho vínculo funcional entre las actividades de la 3β-OHSD y la $\Delta^{5,4}$-isomerasa, y entre las de la 17α-hidroxilasa y 17,20-liasa. Estos pares de enzimas, ambos contenidos en una proteína única, se muestran en la secuencia de reacción general en la figura 41-5.

La dihidrotestosterona se forma a partir de testosterona en tejidos periféricos

La testosterona se metaboliza mediante dos vías. Una involucra oxidación en la posición 17, y la otra reducción del doble enlace del anillo A y la 3-cetona. El metabolismo por medio de la primera vía sucede en muchos tejidos, incluso el hígado, y produce 17-cetosteroides que por lo general son inactivos o menos activos que el compuesto original. El metabolismo mediante la segunda vía, que es menos eficiente, ocurre principalmente en tejidos blanco y produce el potente metabolito dihidrotestosterona (DHT).

La DHT es el producto metabólico más importante de la testosterona, porque en muchos tejidos, entre ellos la próstata, los genitales externos y algunas áreas de la piel, ésta es la forma activa de la hormona. El contenido de DHT en el plasma en el varón adulto es de aproximadamente una décima parte del de testosterona y alrededor de 400 μg de DHT se producen al día en comparación con unos 5 mg de testosterona. Los testículos secretan alrededor de 50 a 100 μg de DHT. El resto se produce en la periferia a partir de la testosterona en una reacción catalizada por la **5α-reductasa** dependiente de NADPH (**figura 41-6**). Así, la testosterona puede considerarse una prohormona, porque se convierte en un compuesto mucho más potente (la dihidrotestosterona, DHT), y porque la mayor parte de esta conversión sucede fuera de los testículos. Se forma algo de estradiol a partir de la aromatización periférica de la testosterona, particularmente en varones.

Esteroidogénesis ovárica

Los estrógenos son una familia de hormonas que se sintetizan en diversos tejidos. El 17β-estradiol es el estrógeno primario de origen ovárico. En algunas especies, la estrona, que se sintetiza en muchos tejidos, es más abundante. Durante el embarazo, se produce relativamente más estriol, y éste proviene de la placenta. La vía general y la ubicación subcelular de las enzimas involucradas en los pasos tempranos de la síntesis de estradiol son las mismas que las implicadas en la biosíntesis de andrógeno. Las características singulares para los ovarios se ilustran en la **figura 41-7**.

Los estrógenos se forman por medio de la aromatización de andrógenos en un proceso complejo que comprende tres pasos de hidroxilación, cada uno de los cuales requiere O_2 y NADPH. Se cree que el **complejo enzimático aromatasa** incluye una P450 monooxigenasa. El estradiol se forma si el sustrato de este complejo enzimático es testosterona, mientras que se produce estrona a partir de la aromatización de la androstenediona.

La fuente celular de los diversos esteroides ováricos ha sido difícil de descubrir, pero está involucrada una transferencia de sustratos entre dos tipos de célula. Las células de la teca son la fuente de la androstenediona y la testosterona, las cuales se convierten, mediante la enzima aromatasa, en células de la granulosa en estrona y estradiol, respectivamente. La progesterona, un precursor de todas las hormonas esteroides, se produce y secreta en el cuerpo amarillo como una hormona producto terminal, porque estas células no contienen las enzimas necesarias para convertir progesterona en otras hormonas esteroides (**figura 41-8**).

Se producen cantidades importantes de estrógenos por medio de la aromatización periférica de andrógenos. En varones, la aromatización periférica de la testosterona hacia estradiol (E_2) explica 80% de la producción de este último. En mujeres, los andrógenos suprarrenales son sustratos importantes, puesto que hasta 50% del E_2 producido en el transcurso de la gestación proviene de la aromatización de andrógenos. Finalmente, la conversión de androstenediona en estrona es la principal fuente de estrógenos en mujeres posmenopáusicas. La actividad de aromatasa está presente en células adiposas y en el hígado, la piel y otros tejidos. La actividad aumentada de esta enzima puede con-

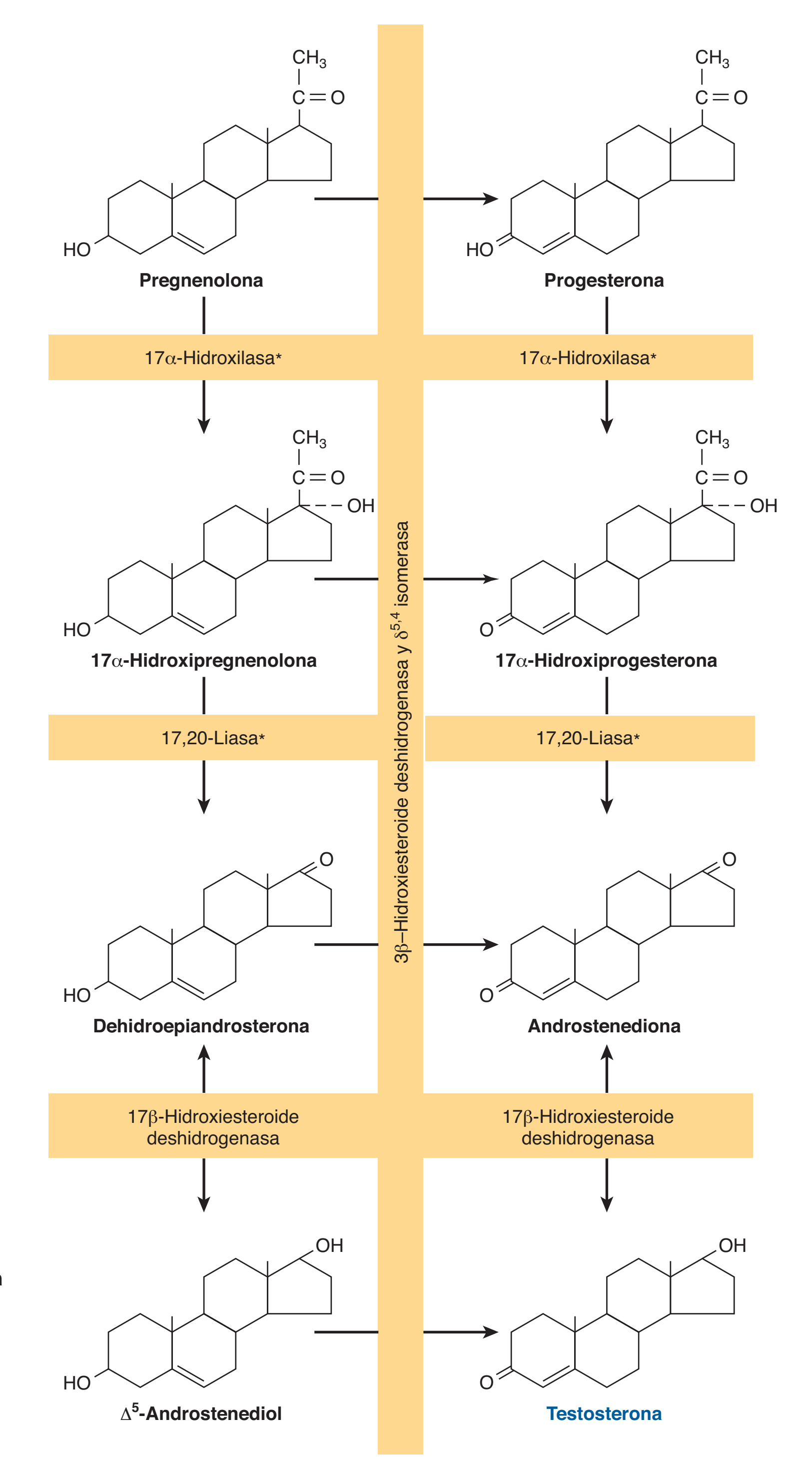


FIGURA 41–5 Vías de la biosíntesis de testosterona. La vía en el lado izquierdo de la figura se llama vía de la Δ^5 o de la dehidroepiandrosterona; la vía en el lado derecho se denomina vía Δ^4 o de la progesterona. El asterisco indica que las actividades de la 17α-hidroxilasa y 17,20-liasa residen en una proteína única, P450c17.

FIGURA 41–6 La dihidrotestosterona se forma a partir de testosterona por medio de la acción de la enzima 5α-reductasa.

Testosterona
5α-Reductasa
NADPH
Dihidrotestosterona (DHT)

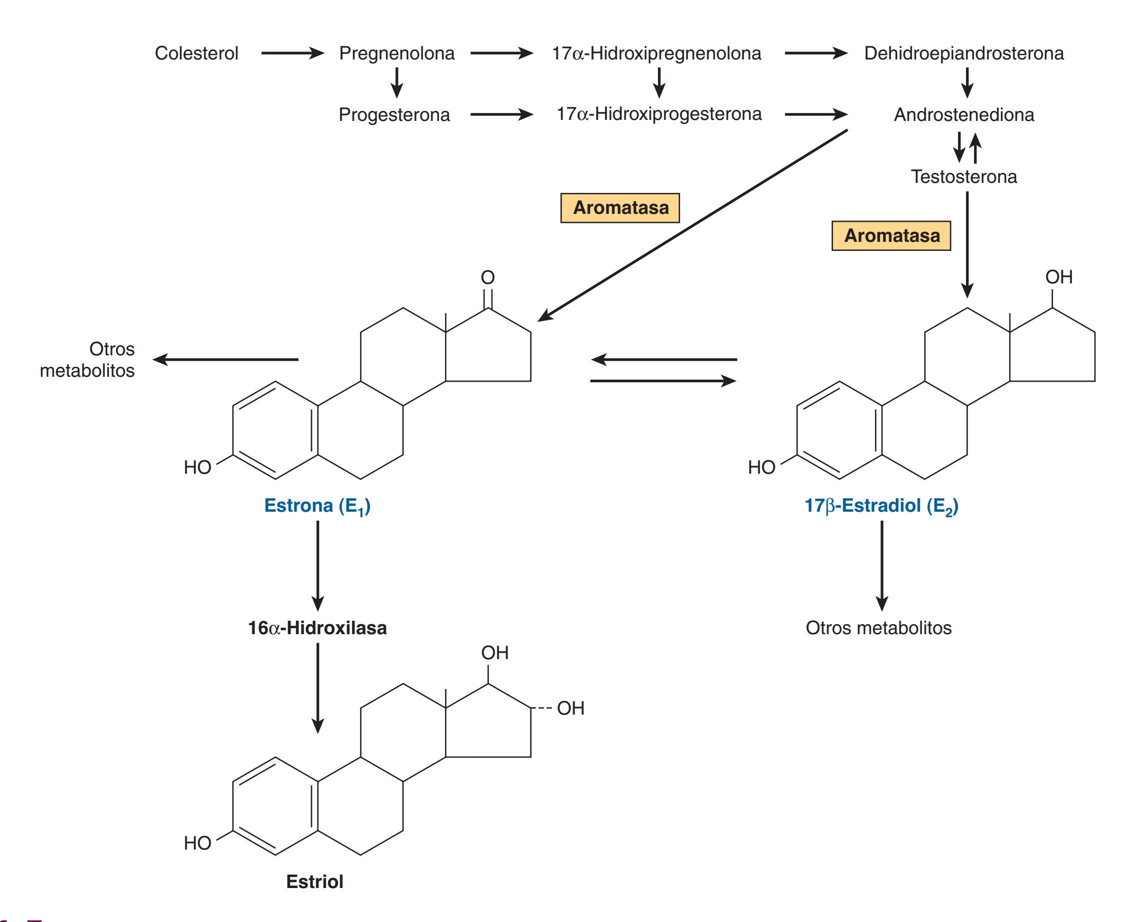


FIGURA 41–7 Biosíntesis de estrógenos. (Modificada y reproducida, con autorización, de Ganong WF: *Review of Medical Physiology,* 21st ed. McGraw-Hill, 2005.)

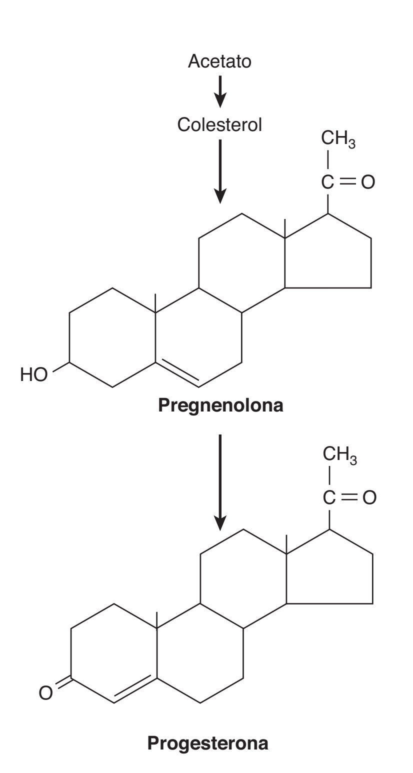


FIGURA 41–8 Biosíntesis de progesterona en el cuerpo amarillo.

tribuir a la "estrogenización" que caracteriza a enfermedades como cirrosis del hígado, hipertiroidismo, envejecimiento y obesidad. Los inhibidores de aromatasa se muestran promisorios como agentes terapéuticos en el cáncer mamario y posiblemente en otras enfermedades malignas de las vías reproductoras femeninas.

El 1,25(OH)$_2$-D$_3$ (calcitriol) se sintetiza a partir de un derivado del colesterol

El 1,25(OH)$_2$-D$_3$ se produce mediante una serie compleja de reacciones enzimáticas que involucran el transporte plasmático de moléculas precursoras hacia diversos tejidos (**figura 41-9**). Uno de estos precursores es la vitamina D, que en realidad no es una vitamina, pero persiste este nombre común. La molécula activa, 1,25(OH)$_2$-D$_3$, se transporta hacia otros órganos donde desencadena procesos biológicos de un modo similar al empleado por las hormonas esteroides.

Piel

Pequeñas cantidades del precursor para la síntesis de 1,25(OH)$_2$-D$_3$ están presentes en alimentos (aceite de hígado de pescado, yema de huevo), pero la mayor parte del precursor se produce en la capa de Malpighi de la epidermis a partir del 7-dehidrocolesterol en una reacción de **fotólisis** no enzimática, mediada por luz ultravioleta. La magnitud de esta conversión se relaciona de manera directa con la intensidad de la exposición e inversamen-

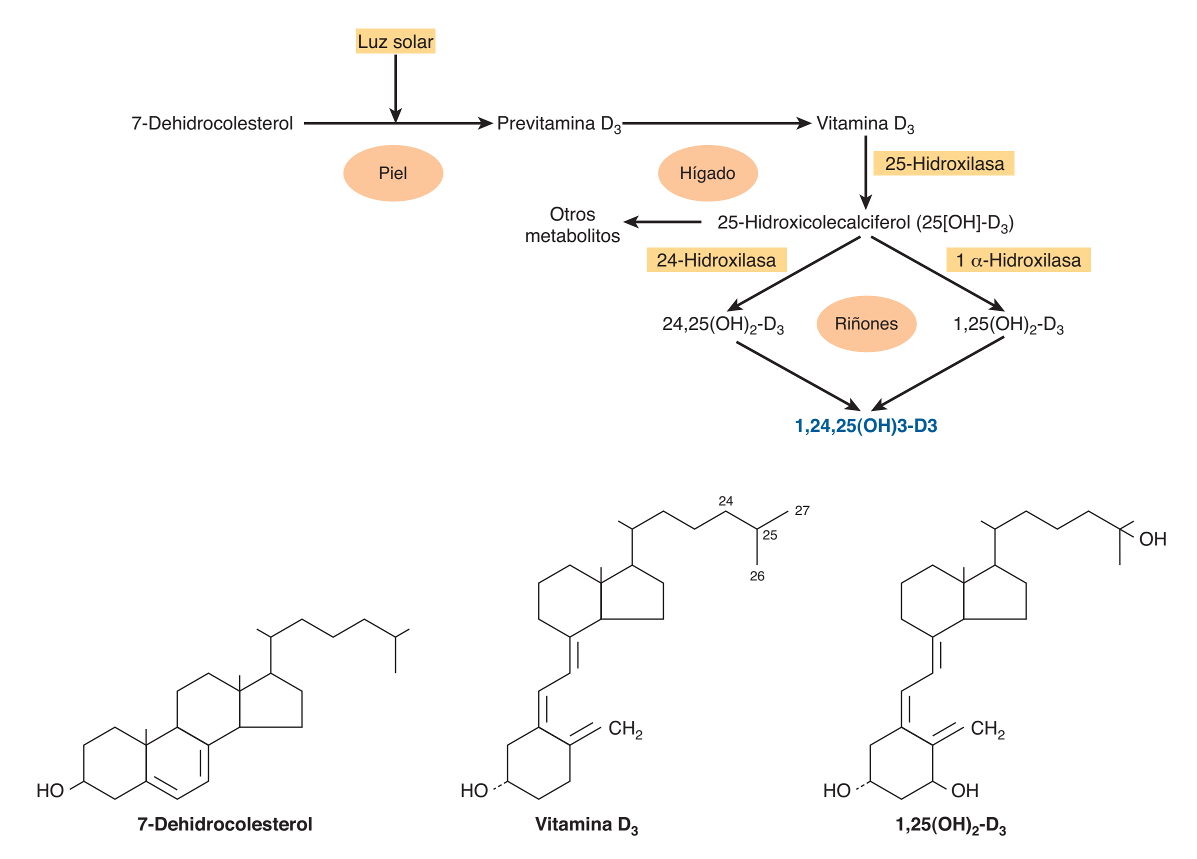


FIGURA 41–9 Formación e hidroxilación de la vitamina D_3. La 25-hidroxilación tiene lugar en el hígado, y las otras hidroxilaciones, en los riñones. Probablemente también se forman 25,26$(OH)_2$-D_3 y 1,25,26$(OH)_3$-D_3. Asimismo, se muestran las estructuras del 7-dehidrocolesterol, vitamina D_3, y 1,25$(OH)_2$-D_3. (Modificada y reproducida, con autorización, de Ganong WF: *Review of Medical Physiology*, 21st ed. McGraw-Hill, 2005.)

te con la magnitud de la pigmentación de la piel. Hay una pérdida (relacionada con la edad) del 7-dehidrocolesterol en la epidermis, que quizá muestre vínculo con el balance negativo de calcio relacionado con la edad avanzada.

Hígado

Una proteína de transporte específica, la **proteína de unión a vitamina D** se une a la vitamina D_3 y sus metabolitos, y mueve a la vitamina D_3 desde la piel o el intestino hacia el hígado, donde pasa por 25-hidroxilación, la primera reacción obligatoria en la producción de 1,25$(OH)_2$-D_3. La 25-hidroxilación ocurre en el retículo endoplásmico en una reacción que necesita magnesio, NADPH, oxígeno molecular, y un factor citoplásmico no caracterizado. Participan dos enzimas: una citocromo P450 reductasa dependiente de NADPH, y un citocromo P450; esta reacción no es regulada, y sucede también con baja eficiencia en los riñones y el intestino. El 25$(OH)_2$-D_3 entra en la circulación, donde es la principal forma de vitamina D que se encuentra en el plasma, y se transporta hacia los riñones por medio de la proteína de unión a vitamina D.

Riñones

El 25$(OH)_2$-D_3 es un agonista débil, y debe modificarse mediante hidroxilación en la posición C_1 para que tenga actividad biológica completa. Esto se logra en las mitocondrias del túbulo contorneado proximal renal por medio de una reacción de monooxigenasa de tres componentes que requiere NADPH, Mg^{2+}, oxígeno molecular y al menos tres enzimas: 1) una flavoproteína, ferredoxina reductasa renal; 2) una proteína de hierro-azufre, ferredoxina renal, y 3) citocromo P450. Este sistema produce 1,25$(OH)_2$-D_3, que es el metabolito natural más potente de la vitamina D.

LAS CATECOLAMINAS Y LAS HORMONAS TIROIDEAS SE FORMAN A PARTIR DE TIROSINA

Las catecolaminas son sintetizadas en forma final y almacenadas en gránulos de secreción

Tres aminas —dopamina, norepinefrina y epinefrina— se sintetizan a partir de la tirosina en las células cromafines de la médula suprarrenal. El principal producto de la médula suprarrenal es la epinefrina; este compuesto constituye un 80% de las catecolaminas en la médula y no se produce en tejido extramedular. En contraste, la mayor parte de la norepinefrina presente en órganos inervados por nervios simpáticos se sintetiza *in situ* (alrededor de 80% del total), y la mayor parte del resto se produce en otras terminaciones nerviosas y alcanza los sitios blanco mediante la circulación. La epinefrina y la norepinefrina se pueden

FIGURA 41-10 Biosíntesis de catecolaminas. (PNMT, feniletanolamina-*N*-metiltransferasa.)

producir y almacenar en diferentes células en la médula suprarenal y otros tejidos cromafines.

La conversión de la tirosina en epinefrina necesita cuatro pasos secuenciales: 1) hidroxilación de anillo; 2) descarboxilación; 3) hidroxilación de cadena lateral para formar norepinefrina, y 4) *N*-metilación para formar epinefrina. La **figura 41-10** ilustra la vía biosintética y las enzimas involucradas.

La tirosina hidroxilasa es limitante para la biosíntesis de catecolamina

La **tirosina** es el precursor inmediato de las catecolaminas, y la **tirosina hidroxilasa** es la enzima limitante en la biosíntesis de catecolamina. La tirosina hidroxilasa se encuentra en formas tanto soluble como unida a partículas sólo en los tejidos que sintetizan catecolaminas; funciona como una oxidorreductasa, con tetrahidropteridina como un cofactor, para convertir a la L-tirosina en L-dihidroxifenilalanina (**L-dopa**). Como la enzima limitante, la tirosina hidroxilasa se regula de diversas maneras. El mecanismo de mayor importancia comprende inhibición por retroacción por las catecolaminas, que compiten con la enzima por el cofactor pteridina. Las catecolaminas no pueden cruzar la barrera hematoencefálica; por consiguiente, en el cerebro se deben sintetizar localmente. En ciertas enfermedades del sistema nervioso central (p. ej., enfermedad de Parkinson), hay una deficiencia local de síntesis de dopamina. La L-dopa, el precursor de la dopamina, cruza con facilidad la barrera hematoencefálica y, de este modo, es un agente importante en el tratamiento de enfermedad de Parkinson.

La dopa descarboxilasa está presente en todos los tejidos

Esta enzima soluble requiere fosfato de piridoxal para la conversión de L-dopa en 3,4-dihidroxifeniletilamina (**dopamina**). Los compuestos que semejan L-dopa, como α-metildopa, son inhibidores competitivos de esta reacción. La α-metildopa es eficaz para tratar algunos tipos de hipertensión.

La dopamina β-hidroxilasa (DBH) cataliza la conversión de dopamina en norepinefrina

La DBH es una monooxigenasa, y usa ascorbato como un donador de electrón, cobre en el sitio activo, y fumarato como modulador. La DBH está en la fracción particulada de las células medulares, probablemente en el gránulo de secreción; de esta manera, la dopamina se convierte en **norepinefrina** en este organelo.

La feniletanolamina-N-metiltransferasa (PNMT) cataliza la producción de epinefrina

La PNMT cataliza la *N*-metilación de la norepinefrina para formar **epinefrina** en las células formadoras de epinefrina de la médula suprarrenal. Dado que la PNMT es soluble, se supone que la norepinefrina se convierte en epinefrina en el citoplasma. La síntesis de PNMT es inducida por hormonas glucocorticoides que llegan a la médula por medio del sistema porta intraadrenal. Este sistema especial proporciona un gradiente de concentración de esteroide de 100 veces sobre la sangre arterial sistémica, y esta cifra intraadrenal alta parece ser necesaria para la inducción de PNMT.

La T_3 y T_4 ilustran la diversidad en la síntesis de hormona

La formación de **triyodotironina** (T_3) y **tetrayodotironina** (**tiroxina;** T_4) (figura 41-2) ilustra muchos de los principios de diversidad comentados en este capítulo. Estas hormonas necesitan un elemento raro (yodo) para tener bioactividad; se sintetizan como parte de una molécula precursora muy grande (tiroglobulina); se almacenan en un reservorio intracelular (coloide), y hay conversión periférica de T_4 en T_3, que es una hormona mucho más activa.

Las hormonas tiroideas T_3 y T_4 son singulares por cuanto el yodo (como yoduro) es un componente esencial de ambas. En casi todo el mundo, el yodo es un componente escaso del suelo, y por eso hay poco en los alimentos. La evolución ha creado un

FIGURA 41-11 Modelo del metabolismo del yoduro en el folículo tiroideo. Se muestra una célula foricular frente a la luz folicular (arriba) y el espacio extracelular (abajo). El yoduro entra en la tiroides principalmente por medio de un transportador (abajo a la izquierda). La hormona tiroidea se sintetiza en el espacio folicular por medio de una serie de reacciones, muchas de las cuales están mediadas por peroxidasa. Las hormonas tiroideas, almacenadas en el coloide en el espacio folicular, se liberan de la tiroglobulina mediante hidrólisis dentro de la célula tiroidea. (Tgb, tiroglobulina; MIT, monoyodotirosina; DIT, diyodotirosina; T_3, triyodotironina; T_4, tetrayodotironina.) Los asteriscos indican los pasos o los procesos donde las deficiencias hereditarias de enzima producen bocio congénito y, a menudo, hipotiroidismo.

mecanismo complejo para adquirir y retener este elemento crucial, y convertirlo en una forma idónea para la incorporación hacia compuestos orgánicos. Al mismo tiempo, la tiroides debe sintetizar tironina a partir de tirosina, y esta síntesis tiene lugar en la tiroglobulina (**figura 41-11**).

La **tiroglobulina** es el precursor de T_4 y T_3. Es una proteína glucosilada, yodada, grande, con una masa molecular de 660 kDa. El carbohidrato explica 8 a 10% del peso de la tiroglobulina, y el yoduro un 0.2 a 1%, según el contenido de yodo en la dieta. La tiroglobulina está compuesta de dos subunidades grandes. Contiene 115 residuos tirosina, cada uno de los cuales es un sitio potencial de yodación. Alrededor de 70% del yoduro en la tiroglobulina existe en los precursores inactivos, **monoyodotirosina** (**MIT**) y **diyodotirosina** (**DIT**), mientras que 30% está en los **residuos yodotironilo**, T_4 y T_3. Cuando el suministro de yodo es suficiente, la proporción T_4:T_3 es de aproximadamente 7:1. En la **deficiencia de yodo**, esta proporción disminuye, al igual que la proporción DIT:MIT. La tiroglobulina, una molécula grande de alrededor de 5 000 aminoácidos, proporciona la conformación requerida para el acoplamiento de tirosilo y la organificación de yoduro necesarios en la formación de las hormonas tiroideas diaminoácido. Se sintetiza en la porción basal de la célula, y se mueve hacia la luz, donde constituye una forma de almacenamiento de T_3 y T_4 en el coloide; en la tiroides normal existe reserva de estas hormonas para varias semanas. Minutos después de estimulación de la tiroides por TSH, el coloide vuelve a entrar en la célula, y hay un notorio incremento de la actividad de fagolisosoma. Diversas proteasas y peptidasas ácidas hidrolizan la tiroglobulina hacia los aminoácidos que la constituyen, incluso T_4 y T_3, que se descargan en el espacio extracelular (figura 41-11). Así, la tiroglobulina es una prohormona muy grande.

El metabolismo de yoduro incluye varios pasos separados

La tiroides tiene la capacidad para concentrar I^- contra un gradiente electroquímico fuerte. Éste es un proceso dependiente de energía, y está enlazado al transportador de I^- tiroideo dependiente de Na^+-K^+-ATPasa. La proporción entre yoduro en la tiroides y yoduro en el suero (proporción T:S) es un reflejo de la actividad de este transportador. Esta actividad es controlada sobre todo por la TSH, y varía desde 500:1 en animales estimulados de modo crónico con TSH, hasta 5:1 o menos en animales hipofisectomizados (sin TSH). La proporción T:S en seres humanos que reciben una dieta con contenido normal de yodo es de aproximadamente 25:1.

La tiroides es el único tejido capaz de oxidar I^- hacia un estado de valencia más alto, un paso obligatorio en la organificación de I^- y la biosíntesis de hormona tiroidea. Este paso comprende una peroxidasa que contiene hem y sucede en la superficie luminal de la célula folicular. La tiroperoxidasa, una proteína tetramérica con una masa molecular de 60 kDa, requiere peróxido de hidrógeno como un agente oxidante. El H_2O_2 se produce mediante una enzima dependiente de NADPH que semeja a la citocromo *c* reductasa. Varios compuestos inhiben la oxidación de I^- y, por tanto, su incorporación subsiguiente hacia MIT y DIT. Los más importantes de éstos son los fármacos tiourea, que se usan como antitiroideos debido a su capacidad para inhibir la biosíntesis de hormona tiroidea en este paso. Una vez que ocurre yodación, el yodo no abandona con facilidad la tiroides. La tirosina libre se puede yodar, pero no se incorpora hacia proteínas puesto que ningún tRNA reconoce la tirosina yodada.

El acoplamiento de dos moléculas de DIT para formar T_4 —o de una MIT y DIT para formar T_3— sucede dentro de la molécula de tiroglobulina. No se ha encontrado una enzima acopladora separada, y dado que éste es un proceso oxidativo, se asume que la misma tiroperoxidasa cataliza esta reacción al estimular la formación de radical libre de yodotirosina. Esta hipótesis recibe apoyo por la observación de que los mismos medicamentos que inhiben la oxidación de I^- también inhiben el acoplamiento. Las hormonas tiroideas formadas permanecen como partes integrales de la tiroglobulina hasta que esta última se degrada, como se describió.

Una desyodasa elimina I^- de las moléculas de monoyodotironina y diyodotironina inactivas en la tiroides. Este mecanismo proporciona una cantidad considerable del I^- que se usa en la biosíntesis de T_3 y T_4. Una desyodasa periférica en tejidos blanco como la hipófisis, los riñones y el hígado, elimina de manera selectiva I^- desde la posición 5′ de T_4 para hacer T_3 (figura 41-2), que es una molécula bastante más activa. En este sentido, la T_4 puede considerarse una prohormona, aun cuando tiene algo de actividad intrínseca.

Varias hormonas se sintetizan a partir de precursores peptídicos de mayor tamaño

La formación de los puentes disulfuro cruciales en la insulina exige que esta hormona se sintetice primero como parte de una molécula precursora de mayor tamaño, la proinsulina. Desde el punto de vista conceptual, esto es similar al ejemplo de las hormonas tiroideas, que sólo pueden formarse en el contexto de una molécula de mucho mayor tamaño. Varias otras hormonas se sintetizan como partes de moléculas precursoras grandes, no debido a algún requerimiento estructural especial, sino más bien como un mecanismo para controlar la cantidad disponible de la hormona activa. PTH y angiotensina II son ejemplos de este tipo de regulación. Otro ejemplo interesante es la proteína POMC, la cual puede procesarse hacia muchas hormonas diferentes de un modo específico para tejido. Estos ejemplos se comentan con detalle más adelante.

La insulina se sintetiza como una preprohormona y se modifica dentro de la célula β

La insulina tiene una estructura heterodimérica AB con un puente disulfuro intracadena (A6-A11) y dos puentes disulfuro intercadena (A7-B7 y A20-B19) (**figura 41-12**). Las cadenas A y B pudieron sintetizarse en el laboratorio, pero los intentos por efectuar una síntesis bioquímica de la molécula de insulina madura dieron muy malos resultados. La razón de esto quedó de manifiesto cuando se descubrió que la insulina se sintetiza como una **preprohormona** (masa molecular relativa [peso molecular] de alrededor de 11 500), que es el prototipo para péptidos que se procesan a partir de moléculas precursoras de mayor tamaño. La secuencia de 23 aminoácidos hidrofóbica pre-, o líder, dirige a la molécula hacia las cisternas del retículo endoplásmico, y después se elimina. Esto origina la molécula de proinsulina de masa molecular relativa (peso molecular) de 9 000, que proporciona la conformación necesaria para la formación apropiada y eficiente de los puentes disulfuro. La secuencia de la proinsulina, empezando a partir del amino terminal, es cadena B —péptido conector (C)— cadena A. La molécula de proinsulina pasa por una serie de divisiones peptídicas específicas para sitio que causan la formación de cantidades equimolares de insulina madura y péptido C. Estas divisiones enzimáticas se resumen en la figura 41-12.

La hormona paratiroidea (PTH) se secreta como un péptido de 84 aminoácidos

El precursor inmediato de la PTH es la **proPTH**, que difiere de la hormona de 84 aminoácidos natural por tener una extensión hexapéptido amino terminal muy básica. El producto de gen primario y el precursor inmediato para la proPTH es la **preproPTH** de 115 aminoácidos. Ésta difiere de la proPTH porque tiene una extensión amino terminal de 25 aminoácidos adicional que, en común con las otras secuencias líder o de señal típicas de las proteínas secretadas, es hidrofóbica. La estructura completa de la preproPTH y las secuencias de la proPTH y la PTH se ilustran en la **figura 41-13**. La PTH_{1-34} tiene actividad biológica completa y la región 25-34 se encarga principalmente de la unión a receptor.

La biosíntesis de la PTH y su secreción subsiguiente se regulan por la concentración plasmática de calcio ionizado (Ca^{2+}) por medio de un proceso complejo. Una disminución aguda del

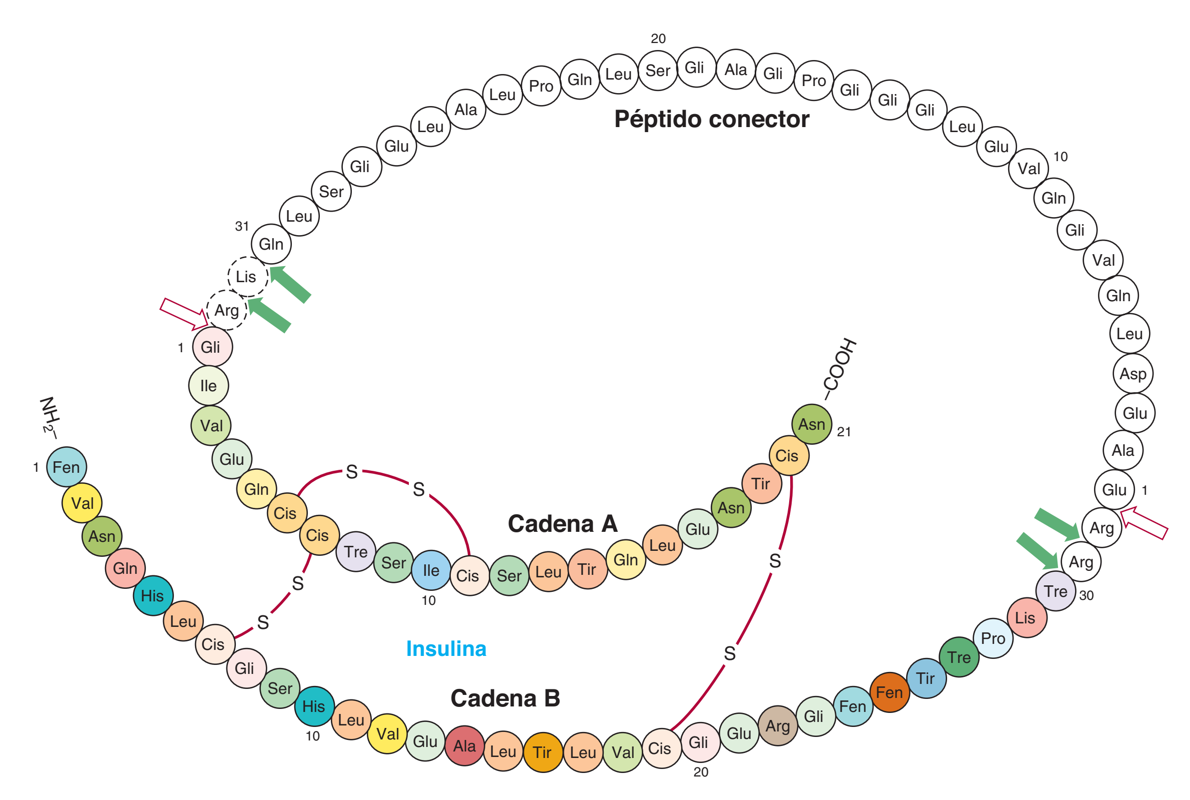


FIGURA 41-12 Estructura de la proinsulina humana. Las moléculas de insulina y péptido C están conectadas en dos sitios por medio de enlaces dipeptídicos. Una división inicial mediante una enzima parecida a tripsina (flechas blancas) seguida por varias divisiones por medio de una enzima parecida a carboxipeptidasa (flechas verdes) ocasionan la producción de una molécula de insulina heterodimérica (AB) (a colores) y el péptido C (de color blanco).

Ca^{2+} suscita un aumento notorio del mRNA de PTH, y esto va seguido por un índice incrementado de síntesis y secreción de PTH. Aun así, entre 80 a 90% de la proPTH sintetizada no puede explicarse como PTH intacta en las células o en el medio de incubación de sistemas experimentales. Este dato dio pie a la conclusión de que la mayor parte de la proPTH sintetizada se degrada con rapidez. Más tarde se descubrió que este índice de degradación se reduce cuando las cifras de Ca^{2+} son bajas y aumenta si son altas. Un receptor de Ca^{2+} sobre la superficie de la célula paratiroidea media estos efectos. Fragmentos muy específicos de la PTH se generan durante su digestión proteolítica (figura 41-13). Varias enzimas proteolíticas, entre ellas catepsinas B y D, se han identificado en el tejido paratiroideo. La catepsina B divide la PTH en dos fragmentos: PTH_{1-36} y PTH_{37-84}. Esta última no se degrada más; comoquiera que sea, la PTH_{1-36} se divide con rapidez y de manera progresiva hacia dipéptidos y tripéptidos. Casi toda la proteólisis de la PTH ocurre dentro de la glándula, pero varios estudios confirman que la PTH, una vez secretada, se degrada de modo proteolítico en otros tejidos, en particular el hígado, mediante mecanismos similares.

La angiotensina II también se sintetiza a partir de un precursor grande

El sistema de renina-angiotensina participa en la regulación de la presión arterial y el metabolismo de electrólitos (por medio de la producción de aldosterona). La hormona primaria incluida en estos procesos es la angiotensina II, un octapéptido que se sintetiza a partir del angiotensinógeno (**figura 41-14**). El angiotensinógeno, una globulina α_2 grande producida en el hígado, es el sustrato para la renina, una enzima que se produce en las células yuxtaglomerulares de la arteriola aferente renal. La posición de estas células las hace en especial sensibles a cambios de la presión arterial, y muchos de los reguladores fisiológicos de la liberación de renina actúan mediante barorreceptores renales. Las células yuxtaglomerulares también son sensibles a cambios de la concentración de Na^+ y Cl^- en el líquido de los túbulos renales; en consecuencia, cualquier combinación de factores que disminuya el volumen de líquido (deshidratación, decremento de la presión arterial, pérdida de líquido o de sangre) o las cifras de NaCl, estimula la liberación de renina. Los nervios simpáticos renales que terminan en las células yuxtaglomerulares median los efectos del sistema nervioso central y posturales sobre la liberación de renina de manera independiente de los efectos del barorreceptor y de la sal, un mecanismo que comprende el receptor β-adrenérgico. La renina actúa sobre el angiotensinógeno sustrato para producir el decapéptido angiotensina I.

La enzima convertidora de angiotensina, una glucoproteína que se encuentra en los pulmones, las células endoteliales y el plasma, elimina dos aminoácidos carboxilo terminal del decapéptido angiotensina I para formar angiotensina II en un paso que no se cree que sea limitante. Diversos análogos nonapéptidos de la angiotensina I y otros compuestos actúan como inhibidores competitivos de la enzima convertidora, y se usan para tratar hipertensión dependiente de renina. Éstos se denominan **inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina** (**ACE**).

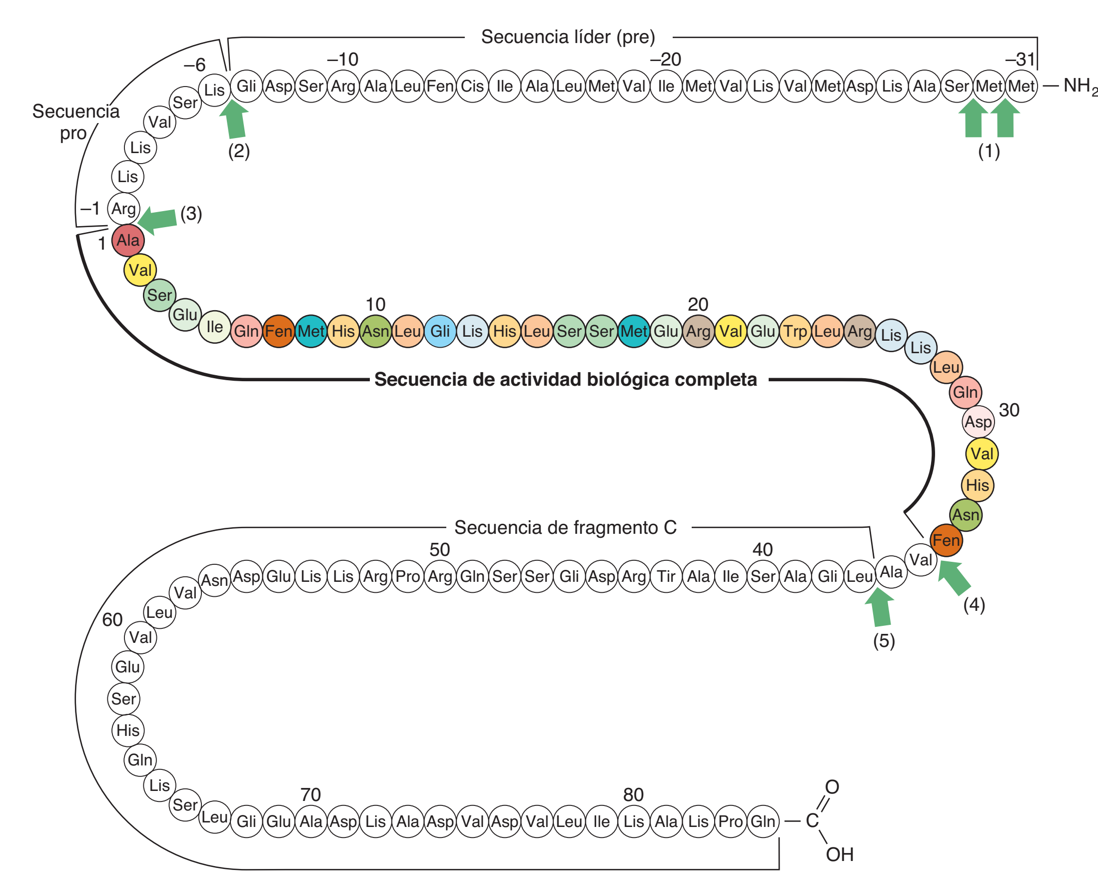


FIGURA 41–13 Estructura de la hormona preproparatiroidea bovina. Las flechas indican los sitios divididos mediante enzimas procesadoras en la glándula paratiroides y en el hígado después de secreción de la hormona (1-5). La región biológicamente activa de la molécula (a colores) está flanqueada por secuencia no requerida para actividad sobre receptores blanco. (Modificada y reproducida, con autorización, de Habener JF: Recent advances in parathyroid hormone research. Clin Biochem 1981;14:223. Copyright © 1981. Reimpresa con autorización de Elsevier.)

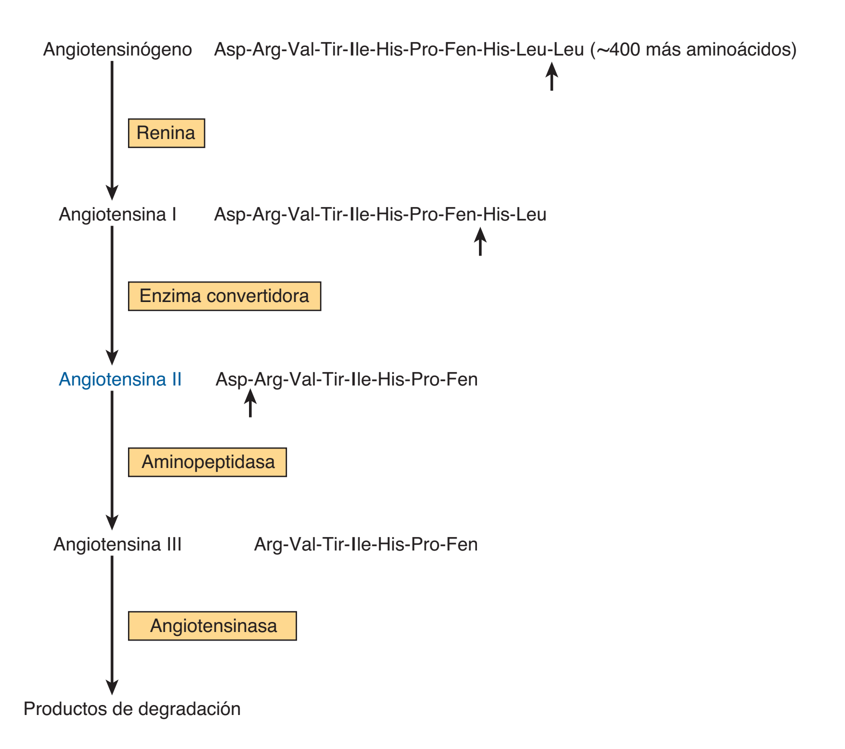


FIGURA 41–14 Formación y metabolismo de angiotensinas. Las flechas pequeñas indican sitios de división.

La angiotensina II incrementa la presión arterial al ocasionar vasoconstricción de las arteriolas, y es una sustancia vasoactiva muy potente. Inhibe la liberación de renina a partir de las células yuxtaglomerulares, y es un potente estimulador de la producción de aldosterona. Esto se traduce en retención de Na^+, expansión de volumen, y presión arterial aumentada.

En algunas especies, la angiotensina II se convierte en el heptapéptido angiotensina III (figura 41-14), un estimulador igual de potente de la producción de aldosterona. En seres humanos, la concentración plasmática de angiotensina II es cuatro veces mayor que la de angiotensina III, de modo que el octapéptido ejerce la mayor parte de los efectos. Las angiotensinasas inactivan con rapidez a las angiotensinas II y III.

La angiotensina II se une a receptores de células de la glomerulosa de la corteza suprarrenal específicos. La interacción hormona-receptor no activa a la adenilil ciclasa, y el cAMP no parece mediar la acción de esta hormona. Las acciones de la angiotensina II, que estimulan la conversión de colesterol en pregnenolona y de corticosterona en 18-hidroxicorticosterona y aldosterona, pueden incluir cambios de las cifras de calcio intracelular y de los metabolitos fosfolípidos por medio de mecanismos similares a los descritos en el capítulo 42.

Procesamiento complejo genera la familia de péptidos pro-opiomelanocortina (POMC)

La familia POMC consta de péptidos que actúan como hormonas (ACTH, LPH, MSH) y otros que pueden servir como neurotransmisores o neuromoduladores (endorfinas) (**figura 41-15**). La POMC se sintetiza como una molécula precursora de 285 aminoácidos, y se procesa de manera diferente en diversas regiones de la hipófisis.

El gen que codifica para POMC se expresa en los lóbulos anterior e intermedio de la hipófisis. Las secuencias más conservadas entre las especies están dentro del fragmento amino terminal, la región de ACTH y la región de la β-endorfina. La POMC o productos vinculados se encuentran en varios otros tejidos de vertebrado, entre ellos el cerebro, la placenta, el tubo digestivo, vías reproductoras, pulmones y linfocitos.

La proteína POMC se procesa de modo diferente en el lóbulo anterior que en el lóbulo intermedio de la hipófisis; este último es rudimentario en seres humanos adultos, pero es activo en fetos humanos y en embarazadas durante las etapas tardías del embarazo, y es también activo en muchas especies de animales. El procesamiento de la proteína POMC en los tejidos periféricos (intestino, placenta, vías reproductoras masculinas) semeja el que sucede en el lóbulo intermedio. Hay tres grupos peptídicos básicos: 1) ACTH, que da lugar a α-MSH y péptido del lóbulo intermedio parecido a corticotropina (CLIP); 2) β-lipotropina (β-LPH), que puede dar γ-LPH, β-MSH y β-endorfina (y, de esta manera, α-endorfina y γ-endorfina), y 3) un péptido amino terminal grande, que genera γ-MSH (que no se muestra). La diversidad de estos productos se debe a las muchas agrupaciones aminoácido dibásicas que son sitios de división potenciales para enzimas parecidas a tripsina. Cada uno de los péptidos mencionados va precedido por residuos Lis-Arg, Arg-Lis, Arg-Arg o Lis-Lis. Luego de que el segmento prohormona se divide, la siguiente división, en los lóbulos tanto anterior como intermedio, es entre la ACTH y β-LPH, lo que da por resultado un péptido amino terminal con un segmento ACTH y uno β-LPH (figura 41-15). La $ACTH_{1-39}$ después se divide del péptido amino terminal, y en el lóbulo anterior en esencia no ocurren más divisiones. En el lóbulo intermedio, la $ACTH_{1-39}$ se divide hacia α-MSH (residuos 1-13) y CLIP (18-39); la β-LPH (42-134) se convierte en γ-LPH (42-101) y β-endorfina (104-134). La β-MSH (84-101) se deriva de la γ-LPH, mientras que la γ-MSH (50-74) se deriva de un fragmento POMC *N*-terminal (1-74).

Hay extensas modificaciones específicas para tejido adicionales de estos péptidos, que afectan la actividad. Estas modificaciones comprenden fosforilación, acetilación, glucosilación y amidación.

Las mutaciones del receptor α-MSH están enlazadas a una forma de obesidad de inicio temprano, frecuente. Esta observación ha redirigido la atención hacia las hormonas peptídicas POMC.

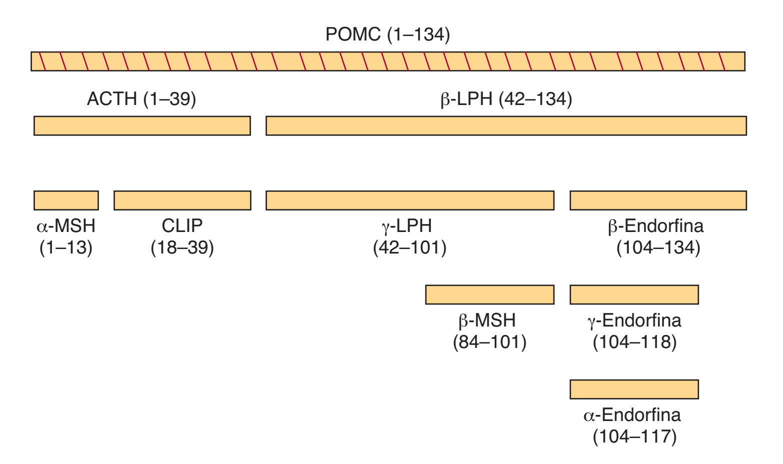


FIGURA 41–15 Productos de la división de pro-opiomelanocortina (POMC). (MSH, hormona estimulante de melanocito; CLIP, péptido del lóbulo intermedio parecido a corticotropina; LPH, lipotropina.)

HAY VARIACIÓN DEL ALMACENAMIENTO Y LA SECRECIÓN DE HORMONAS

Como ya se mencionó, las hormonas esteroides y el 1,25$(OH)_2$-D_3 se sintetizan en su forma activa final. También son secretadas a medida que se sintetizan y, de este modo, no hay reservorio intracelular de estas hormonas. Las catecolaminas, que también se sintetizan en forma activa, se almacenan en gránulos en las células cromafines de la médula suprarrenal. En respuesta a estimulación neural apropiada, estos gránulos se liberan desde la célula mediante exocitosis y las catecolaminas se liberan hacia la circulación. Las células cromafines tienen una reserva de catecolaminas para varias horas.

Asimismo, la hormona paratiroidea existe en vesículas de almacenamiento. Hasta 80 a 90% de la pro PTH sintetizada se degrada antes de entrar en su compartimiento de almacenamiento final, en particular cuando las concentraciones de Ca^{2+} son altas en la célula paratiroidea (véase antes). La PTH se secreta cuando el Ca^{2+} es bajo en las células paratiroideas, que contienen una reserva de la hormona para varias horas.

El páncreas del ser humano secreta alrededor de 40 a 50 unidades de insulina a diario; esto representa entre 15 a 20% de la hormona almacenada en las células β. La insulina y el péptido C (figura 41-12) normalmente se secretan en cantidades equimolares. Por ende, estímulos como la glucosa, que desencadena la secreción de insulina, activan el procesamiento de proinsulina hacia insulina como una parte esencial de la respuesta secretoria.

Existe una reserva de T_3 y T_4 para varias semanas en la tiroglobulina que está almacenada en coloide en la luz de los folículos tiroideos. Estas hormonas pueden liberarse en el momento de estimulación por TSH. Éste es el ejemplo más exagerado de una prohormona, puesto que primero se debe sintetizar una molécula que contiene alrededor de 5 000 aminoácidos, y luego degradar, para aportar algunas moléculas de las hormonas activas T_4 y T_3. El **cuadro 41-5** ilustra la diversidad del almacenamiento y la secreción de hormonas.

ALGUNAS HORMONAS TIENEN PROTEÍNAS DE TRANSPORTE EN EL PLASMA

Las hormonas clase I son de naturaleza química hidrofóbica y, así, no son muy solubles en el plasma. Estas hormonas, principalmente los esteroides y las hormonas tiroideas, tienen proteínas de transporte en el plasma especializadas que desempeñan varias funciones. En primer lugar, estas proteínas sortean el problema de solubilidad y, de esta manera, suministran la hormona a la célula blanco. También proporcionan un reservorio circulante de la hormona que puede ser considerable, como sucede con las hormonas tiroideas. Las hormonas, cuando están unidas a las proteínas de transporte, no se pueden metabolizar, lo que prolonga su vida media ($t_{½}$) plasmática. La afinidad de unión de una hormona dada a su transportador determina la proporción de hormona unida en contraposición con libre. Esto tiene importancia porque sólo la forma libre de una hormona tiene actividad biológica. En general, las cifras de hormona libre en el plasma son muy bajas, dentro del rango de 10^{-15} a 10^{-9} mol/L. Tiene importancia distinguir entre proteínas de transporte en el plasma y receptores de hormona. Ambos se unen a hormonas, pero con características muy diferentes (**cuadro 41-6**).

CUADRO 41–5 Diversidad en el almacenamiento de hormonas

Hormona	Reserva almacenada en la célula
Esteroides y 1,25$(OH)_2$-D_3	Ninguno
Catecolaminas y PTH	Horas
Insulina	Días
T_3 y T_4	Semanas

CUADRO 41–6 Comparación de receptores con proteínas de transporte

Característica	Receptores	Proteínas de transporte
Concentración	Muy baja (miles/célula)	Muy alta (miles de millones/μl)
Afinidad de unión	Alta (rango de pmol/L a nmol/L)	Baja (rango de μmol/L)
Especificidad de unión	Muy alta	Baja
Saturabilidad	Sí	No
Reversibilidad	Sí	Sí
Transducción de señal	Sí	No

Las hormonas hidrofílicas —por lo regular clase II y de estructura peptídica— son libremente solubles en el plasma y no necesitan proteínas de transporte. Las hormonas como la insulina, GH, ACTH y TSH, circulan en la forma libre, activa, con vida media plasmática muy breve. Una notable excepción es el IGF-1, que se transporta unido a una familia de proteínas de unión.

Las hormonas tiroideas se transportan por medio de la globulina de unión a tiroxina

Muchos de los principios antes comentados se ilustran en una exposición acerca de las proteínas de unión a tiroxina. La mitad a dos terceras partes de la T_4 y la T_3 en el organismo se encuentran en un reservorio extratiroideo. La mayor parte de esto circula en forma unida, es decir, unida a una proteína de unión específica, la **globulina de unión a tiroxina** (**TBG**). La TBG, una glucoproteína con una masa molecular de 50 kDa, se une a T_4 y T_3, y tiene la capacidad para unir 20 μg/dl de plasma. En circunstancias normales, la TBG une —de modo no covalente— casi toda la T_4 y T_3 en el plasma, y se une a T_4 con mayor afinidad que a T_3 (**cuadro 41-7**). La vida media plasmática de T_4 es correspondientemente 4 a 5 veces la de la T_3. La actividad biológica depende de la pequeña fracción no unida (libre). De esta manera, a pesar de la gran diferencia de la cantidad total, la fracción libre de T_3 se aproxima a la de T_4, y dado que la T_3 es intrínsecamente más activa que la T_4, casi toda la actividad biológica se atribuye a T_3. La TBG no se une a cualquier otra hormona.

CUADRO 41–7 Comparación de T_4 y T_3 en el plasma

Hormona total (μg/dl)		Hormona libre			$t_{1/2}$ en la sangre (días)
		Porcentaje del total	ng/dl	Molaridad	
T_4	8	0.03	~2.24	3.0×10^{-11}	6.5
T_3	0.15	0.3	~0.4	0.6×10^{-11}	1.5

CUADRO 41–8 Afinidades aproximadas de los esteroides para proteínas de unión séricas

	SHBG[1]	CBG[1]
Dihidrotestosterona	1	>100
Testosterona	2	>100
Estradiol	5	>10
Estrona	>10	>100
Progesterona	>100	~2
Cortisol	>100	~3
Corticosterona	>100	~5

[1] Afinidad expresada como K_d (nmol/L).

Los glucocorticoides se transportan mediante globulina de unión a corticosteroide (CBG)

La hidrocortisona (cortisol) también circula en el plasma en formas unida a proteína y libre. La principal proteína de unión en el plasma es una α-globulina llamada **transcortina**, o **CBG**. La CBG se produce en el hígado, y los estrógenos incrementan su síntesis, al igual que la de TBG. La CBG se une a la mayor parte de la hormona cuando las concentraciones plasmáticas de cortisol están dentro del límite normal; cantidades considerablemente menores de cortisol están unidas a albúmina. La avidez de unión ayuda a determinar la vida media biológica de diversos glucocorticoides. El cortisol se une de modo estrecho a la CBG, y tiene una $t_{½}$ de 1.5 a 2 h, mientras que la corticosterona, que se une de manera menos estrecha, tiene una $t_{½}$ de menos de 1 h (**cuadro 41-8**). El cortisol no unido (libre) constituye alrededor de 8% del total y representa la fracción que tiene actividad biológica.

La unión a CBG no se restringe sólo a glucocorticoides. La desoxicorticosterona y la progesterona interactúan con la CBG teniendo suficiente afinidad como para competir por la unión a cortisol. La aldosterona, el mineralocorticoide natural más potente, carece de una proteína de transporte específica en el plasma. Los esteroides gonadales se unen de modo muy débil a la CBG (cuadro 41-8).

Los esteroides gonadales se transportan por medio de la globulina de unión a hormona sexual

Casi todos los mamíferos, incluidos los seres humanos, tienen una β-globulina plasmática que se une a la testosterona con especificidad, afinidad relativamente alta y capacidad limitada (cuadro 41-8). Esta proteína, por lo general denominada **globulina de unión a hormona sexual** (**SHBG**) o globulina de unión a testosterona-estrógeno (TEBG), se produce en el hígado. Su síntesis aumenta por los estrógenos (las mujeres tienen cifra sérica de SHBG dos veces mayor que los varones), ciertos tipos de enfermedad del hígado e hipertiroidismo, y se aminora por andrógenos, edad avanzada e hipotiroidismo. Muchos de estos estados o enfermedades también afectan la producción de CBG y TBG. Puesto que la SHBG y la albúmina se unen a 97 a 99% de la testosterona circulante, sólo una pequeña fracción de la hormona en la circulación se encuentra en la forma libre (que tiene actividad biológica). La función primaria de la SHBG tal vez sea restringir la concentración de testosterona libre en el suero. La testosterona se une a la SHBG con mayor afinidad que el estradiol (cuadro 41-8). Por consiguiente, un cambio de las cifras de SHBG suscita un mayor cambio de la concentración de testosterona libre que de la de estradiol libre.

Los estrógenos se unen a la SHBG, y las progestinas a la CBG. La SHBG se une al estradiol con avidez unas cinco veces menor que a la testosterona o a la DHT, mientras que la progesterona y el cortisol tienen poca afinidad por esta proteína (cuadro 41-8). En contraste, la progesterona y el cortisol se unen con afinidad casi igual a la CBG que, a su vez, tiene poca avidez por el estradiol, y avidez aún menor por la testosterona, DHT o estrona.

Las proteínas de unión mencionadas también proporcionan un reservorio circulante de la hormona y debido a la capacidad de la unión relativamente grande, probablemente amortiguan contra cambios repentinos de la concentración plasmática. Dado que los índices de depuración metabólica de estos esteroides guardan relación inversa con la afinidad de su unión a SHBG, la estrona se depura con mayor rapidez que el estradiol, el cual a su vez se depura con más rapidez que la testosterona o la DHT.

RESUMEN

- La presencia de un receptor específico define las células blanco para una hormona dada.
- Los receptores son proteínas que se unen a hormonas específicas y generan una señal intracelular (acoplamiento receptor-efector).
- Algunas hormonas tienen receptores intracelulares; otras se unen a receptores en la membrana plasmática.
- Las hormonas se sintetizan a partir de varias moléculas precursoras, entre ellas colesterol, tirosina en sí, y todos los aminoácidos que constituyen péptidos y proteínas.
- Varios procesos de modificación alteran la actividad de las hormonas. Por ejemplo, muchas hormonas se sintetizan a partir de moléculas precursoras de mayor tamaño.
- La totalidad de enzimas en un tipo de célula particular permite la producción de una clase específica de hormona esteroide.
- Casi todas las hormonas solubles en lípido están unidas a proteínas de transporte en el plasma más bien específicas.

REFERENCIAS

Bain DL, Heneghan AF, Connaghan-Jones KD, et al: Nuclear receptor structure: implications for function. Ann Rev Physiol 2007;69:201.

Bartalina L: Thyroid hormone-binding proteins: update 1994. Endocr Rev 1994;13:140.
Beato M, Herrlich P, Schütz G: Steroid hormone receptors: many actors in search of a plot. Cell 1995;83:851.
Cheung E, Kraus WL: Genomic Analyses of Hormone Signaling and Gene Regulation. Annu Rev Physiol 2010;72:191–218.
Cristina Casals-Casas C, Desvergne B: Endocrine Disruptors: From Endocrine to Metabolic Disruption. Annu Rev Physiol 2011;73:23.1–23.28.
Dai G, Carrasco L, Carrasco N: Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter. Nature 1996;379:458.
DeLuca HR: The vitamin D story: a collaborative effort of basic science and clinical medicine. FASEB J 1988;2:224.
Douglass J, Civelli O, Herbert E: Polyprotein gene expression: Generation of diversity of neuroendocrine peptides. Annu Rev Biochem 1984;53:665.
Farooqi IS, O'Rahilly S: Monogenic obesity in humans. Ann Rev Med 2005;56:443.
Miller WL: Molecular biology of steroid hormone biosynthesis. Endocr Rev 1988;9:295.
Nagatsu T: Genes for human catecholamine-synthesizing enzymes. Neurosci Res 1991;12:315.
Russell DW, Wilson JD: Steroid 5 alpha-reductase: two genes/two enzymes. Annu Rev Biochem 1994;63:25.
Russell J, Bar A, Sherwood LM, et al: Interaction between calcium and 1,25-dihydroxyvitamin D_3 in the regulation of preproparathyroid hormone and vitamin D receptor mRNA in avian parathyroids. Endocrinology 1993;132:2639.
Steiner DF, Smeekens SP, Ohagi S, et al: The new enzymology of precursor processing endoproteases. J Biol Chem 1992;267:23435.
Taguchi A, White M: Insulin-like signaling, nutrient homeostasis, and life span. Ann Rev Physiol 2008;70:191.

CAPÍTULO 42

Acción hormonal y transducción de señal

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Explicar las implicaciones de estímulos, liberación de hormona, generación de señal y respuesta efectora en diversos procesos fisiológicos regulados por hormona.
- Explicar la función de receptores y de proteínas G de unión a GTP en la transducción de señal de hormona, particularmente respecto a la generación de segundos mensajeros.
- Apreciar los patrones complejos de la comunicación recíproca de vía de transducción de señal en la mediación de salidas fisiológicas complicadas.
- Entender las funciones clave que desempeñan las interacciones entre proteína y ligando, y entre proteína y proteína; la modificación postraduccional de proteína (p. ej., fosforilación y acetilación), y las interacciones entre proteína y DNA, en la mediación de procesos fisiológicos dirigidos por hormona.
- Apreciar que los receptores modulados por hormona, segundos mensajeros y moléculas emisoras de señal asociadas representan una rica fuente de desarrollo de blancos farmacológicos potenciales, dados sus papeles clave en la regulación de la fisiología.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las adaptaciones homeostáticas que un organismo hace a un ambiente en cambio constante se logran en gran parte por medio de alteraciones de la actividad y la cantidad de proteínas. Las hormonas proporcionan un importante medio para facilitar estos cambios. Una interacción entre hormona y receptor da por resultado la generación de una señal intracelular capaz de regular la actividad de un grupo selecto de genes, lo que altera la cantidad de ciertas proteínas en la célula blanco, o afecta la actividad de proteínas específicas, entre ellas enzimas y proteínas transportadoras o canal. La señal puede influir sobre la localización de proteínas en la célula, y afectar procesos generales como la síntesis de proteína, el crecimiento celular, y la replicación, quizá mediante efectos sobre la expresión de gen. Otras moléculas emisoras de señal —entre ellas citocinas, interleucinas, factores de crecimiento y metabolitos— usan algunos de los mismos mecanismos generales y vías de transducción de señal. La producción y liberación excesiva, deficiente o inapropiada de hormonas y de estas otras moléculas reguladoras son causas importantes de enfermedad. Muchos agentes farmacoterapéuticos se dirigen a corregir las vías que se comentan en este capítulo o por lo demás influir sobre las mismas.

LAS HORMONAS TRANSDUCEN SEÑALES PARA AFECTAR MECANISMOS HOMEOSTÁTICOS

La **figura 42-1** ilustra los pasos generales incluidos en la producción de una respuesta coordinada a un estímulo particular. El estímulo puede ser un desafío o una amenaza para el organismo, para un órgano, o para la integridad de una célula única dentro de ese organismo. El reconocimiento del estímulo es el primer paso en la respuesta adaptativa. En el ámbito de organismo, esto por lo general involucra el sistema nervioso y los sentidos especiales (vista, audición, dolor, olfato, tacto). En el ámbito de organismo o célula, el reconocimiento comprende factores físico-químicos como pH, tensión de O_2, temperatura, aporte de nutriente, metabolitos nocivos y osmolaridad. El reconocimiento apropiado origina la liberación de una o más hormonas que regirán la generación de la respuesta adaptativa necesaria. Para propósitos de esta exposición, las hormonas se clasifican como se describió en el capítulo 41, es decir, con base en la localización de sus receptores celulares específicos y el tipo de señales generadas. Las hormonas del grupo I interactúan con un receptor intracelular, y las del grupo II, con sitios de reconocimiento de

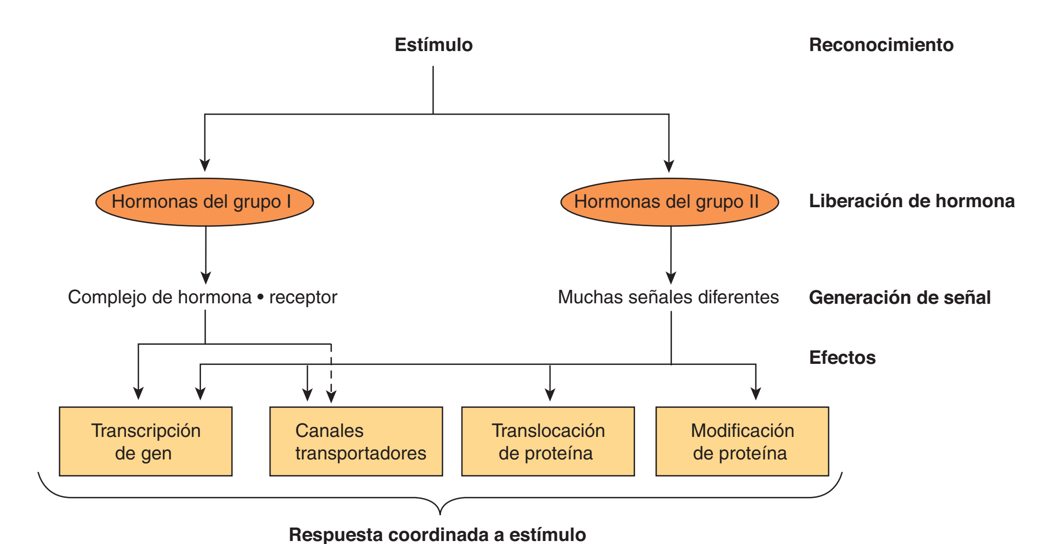


FIGURA 42–1 Participación hormonal en respuestas a un estímulo. Un desafío para la integridad del organismo desencadena una respuesta que incluye la liberación de una o más hormonas. Estas hormonas generan señales en células blanco o dentro de las mismas, y estas señales regulan diversos procesos biológicos que proporcionan una respuesta coordinada al estímulo o desafío. Véase un ejemplo específico en la figura 42-8.

receptor localizados en la superficie extracelular de la membrana plasmática de las células blanco. Las citocinas, interleucinas y factores de crecimiento también deben considerarse en esta última categoría. Estas moléculas, de importancia crucial en la adaptación homeostática, son hormonas en el sentido de que se producen en células específicas; tienen el equivalente de acciones autocrina, paracrina y endocrina; se unen a receptores de superficie celular, y activan muchas de las mismas vías de transducción de señal empleadas por las hormonas del grupo II más tradicionales.

GENERACIÓN DE SEÑAL

El complejo de ligando-receptor es la señal para las hormonas del grupo I

Las hormonas del grupo I lipofílicas se difunden a través de la membrana plasmática de todas las células, pero sólo encuentran sus receptores intracelulares específicos, de alta afinidad, en células blanco. Estos receptores pueden estar ubicados en el citoplasma o en el núcleo de las células blanco. El complejo de hormona-receptor primero pasa por una **reacción de activación**. El receptor se activa por medio de al menos dos mecanismos (**figura 42-2**); por ejemplo, los glucocorticoides se difunden a través de la membrana plasmática y encuentran su receptor cognado en el citoplasma de las células blanco. La unión de ligando y receptor causa un cambio de conformación en el receptor que conduce a la disociación de la proteína de choque por calor 90 (hsp90); este paso parece ser necesario para la localización nuclear subsiguiente del receptor de glucocorticoide. Asimismo, este receptor contiene una secuencia de localización nuclear que ahora está libre para ayudar en la translocación desde el citoplasma hacia el núcleo. El receptor activado se mueve hacia el núcleo (figura 42-2), y se une con alta afinidad a una secuencia de DNA específica denominada **elemento de respuesta a hormona** (**HRE**). En el caso ilustrado, éste es un elemento de respuesta a glucocorticoide (GRE). El **cuadro 42-1** muestra secuencias de consenso para HRE. El receptor unido a

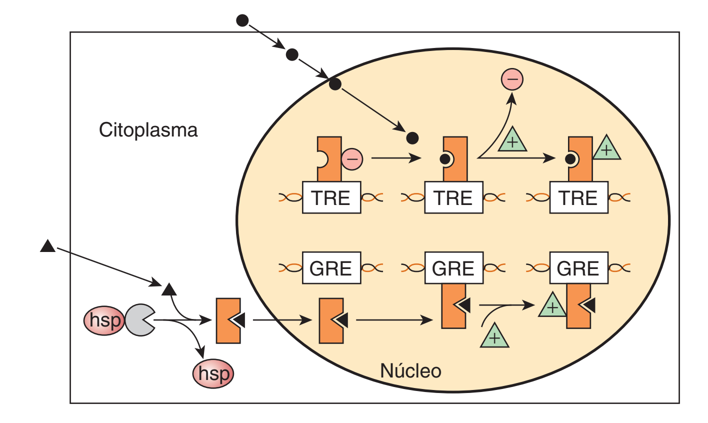


FIGURA 42–2 Regulación de la expresión de gen por dos hormonas clase I diferentes, la hormona tiroidea y los glucocorticoides. Las hormonas esteroides hidrofóbicas tienen fácil acceso al compartimiento citoplásmico de células blanco mediante difusión a través de la membrana plasmática. Las hormonas glucocorticoides (triángulos negros) encuentran su receptor cognado (GR) en el citoplasma, donde el GR existe en un complejo con proteína de choque por calor 90 (hsp). La unión a ligando causa disociación de hsp y un cambio conformacional del receptor. El complejo de receptor-ligando a continuación cruza la membrana nuclear y se une al DNA con especificidad, y con afinidad alta, en un elemento de respuesta a glucocorticoide (GRE). Este evento afecta la estructura de varios correguladores de transcripción (triángulos verdes), y el resultado es transcripción aumentada. En contraste, las hormonas tiroideas y el ácido retinoico (•) entran directamente al núcleo, donde los receptores heterodiméricos cognados (TR-RXR; figura 42-12) ya están unidos a los elementos de respuesta apropiados con un complejo represor de transcripción asociado (círculos rojos). Ocurre unión de hormona-receptor, que de nuevo induce cambios conformacionales en el receptor, lo que lleva a una reorganización de interacciones entre receptor (TR) y corregulador (es decir, moléculas como N-CoR o SMRT [cuadro 42-6]). La unión a ligando da por resultado disociación del complejo represor desde el receptor, lo que permite que se monte un complejo activador, que consta del TR-TRE y coactivador. A continuación el gen es transcrito de manera activa.

CUADRO 42–1 Las secuencias de DNA de varios elementos de respuesta a hormona (HRE)[1]

Hormona o efector	HRE	Secuencia de DNA
Glucocorticoides Progestinas Mineralocorticoides Andrógenos	GRE PRE MRE ARE	GGTACA NNN TGTTCT ←——— ———→
Estrógenos	ERE	AGGTCA --- TGACCT ←——— ———→
Hormona tiroidea Ácido retinoico Vitamina D	TRE RARE VDRE	AGGTCA N1-5 AGGTCA ———→ ———→
cAMP	CRE	TGACGTCA

[1] Las letras indican nucleótido. N significa que cualquiera de los cuatro puede usarse en esa posición. Las flechas que apuntan en direcciones opuestas ilustran los palíndromos invertidos un poco imperfectos presentes en muchos HRE; en algunos casos éstos se llaman "medios sitios de unión" porque cada uno se une a un monómero del receptor. El GRE, PRE, MRE y ARE constan de la misma secuencia de DNA. La especificidad puede conferirse por la concentración intracelular del ligando o el receptor de hormona, por secuencias de DNA flanqueantes no incluidas en el consenso, o por otros elementos accesorios. Un segundo grupo HRE comprende los destinados a hormonas tiroideas, estrógenos, ácido retinoico y vitamina D. Estos HRE son similares excepto por la orientación y el espaciamiento entre los medios palíndromos. El espaciamiento determina la especificidad para hormona. VDRE (N = 3), TRE (N = 4) y RARE (N = 5) se unen a repeticiones directas más que a repeticiones invertidas. Otro miembro de la subfamilia de receptor de esteroide, el receptor X retinoide (RXR), forma heterodímeros con VDR, TR, y RARE, y éstos constituyen las formas funcionales de estos factores de acción *trans*. El cAMP afecta la transcripción de gen por medio del CRE.

DNA, con ligando, sirve como un sitio de unión de alta afinidad para una o más proteínas coactivadoras, y cuando esto ocurre típicamente sobreviene transcripción de gen acelerada. En contraste, ciertas hormonas, como las hormonas tiroideas y los retinoides, se difunden desde el líquido extracelular a través de la membrana plasmática, y van de manera directa hacia el núcleo. En este caso, el receptor cognado ya está unido al HRE (el elemento de respuesta a hormona tiroidea [TRE], en este ejemplo); sin embargo, este receptor unido a DNA no activa transcripción porque existe en complejo con un correpresor. En realidad, este complejo de receptor-correpresor sirve como un represor activo de la transcripción de gen. La asociación de ligando con estos receptores suscita disociación del o los correpresores. El receptor con ligando ahora tiene la capacidad para unirse a uno o más coactivadores con afinidad alta, lo que produce el reclutamiento de RNA polimerasa II y el GTF, y activación de la transcripción de gen. La relación de receptores de hormona con otros receptores nucleares y con correguladores se comenta con mayor detalle más adelante.

Al afectar de modo selectivo la transcripción de gen y la producción consiguiente de mRNA blanco apropiados, se cambian las cantidades de proteínas específicas, y se influye sobre los procesos metabólicos. La influencia de cada una de estas hormonas es bastante específica; en general, una hormona dada afecta a menos de 1% de los genes, el mRNA o las proteínas en una célula blanco; a veces sólo algunos quedan afectados. Las acciones nucleares de hormonas esteroides, tiroideas y retinoides están bastante bien definidas. Casi toda la evidencia sugiere que estas hormonas ejercen su efecto dominante sobre la modulación de la transcripción de gen, pero ellas —y muchas de las

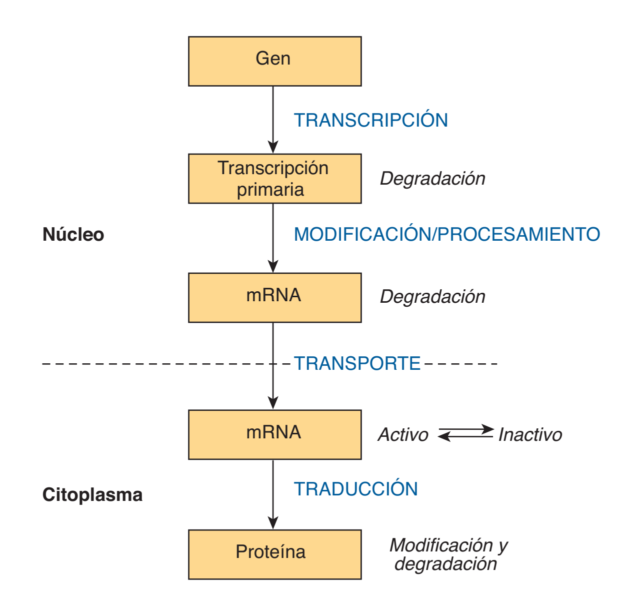


FIGURA 42–3 La "vía de la información". La información fluye desde el gen hacia la transcripción primaria, hacia mRNA, y hacia proteína. Las hormonas pueden afectar cualquiera de los pasos comprendidos, y los índices de procesamiento, degradación o modificación de los diversos productos.

hormonas de las otras clases que se comentan más adelante— pueden actuar en cualquier paso de la "vía de información" (**figura 42-3**) para controlar la expresión de gen específica y, por último, una respuesta biológica. También se han descrito las acciones directas de esteroides en el citoplasma y sobre varios organelos y membranas. De manera reciente, los microRNA han quedado implicados en la mediación de algunas de las diversas acciones de la hormona peptídica insulina.

LAS HORMONAS DEL GRUPO II (PÉPTIDO Y CATECOLAMINA) TIENEN RECEPTORES DE MEMBRANA Y USAN MENSAJEROS INTRACELULARES

Muchas hormonas son hidrosolubles, carecen de proteínas de transporte (y, en consecuencia, tienen una vida media plasmática breve), e inician una respuesta al unirse a un receptor ubicado en la membrana plasmática (cuadros 41-3 y 41-4). El mecanismo de acción de este grupo de hormonas es más comprensible en términos de las **señales intracelulares** que generan, las cuales incluyen **cAMP** (AMP cíclico; ácido 3′,5′-adenílico; figura 19-5), un nucleótido derivado de ATP mediante la acción de la adenilil ciclasa; **cGMP**, un nucleótido formado por la guanilil ciclasa; **Ca^{2+}**, y **fosfatidilinositidas**; **esas moléculas se llaman segundos mensajeros** dado que su síntesis es desencadenada por la presencia de la hormona primaria (molécula) que se une a su receptor. Muchos de estos segundos mensajeros afectan la transcripción de gen, como se describió en el párrafo previo, pero también influyen sobre varios otros procesos biológicos (figura 42-3).

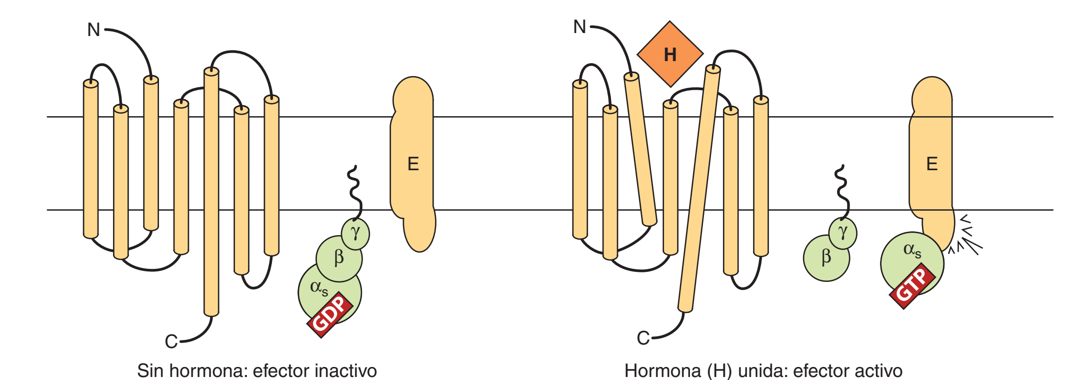


FIGURA 42–4 Componentes del sistema efector de receptor de hormona-proteína G. Los receptores que se acoplan a efectores mediante proteínas G (GPCR) típicamente tienen 7 dominios que abarcan la membrana. En ausencia de hormona (**izquierda**), el complejo de proteína G heterotrimérico (α, β, γ) se encuentra en una forma inactiva unida a guanosín difosfato (GDP), y probablemente no está asociado con el receptor. Este complejo está fijo a la membrana plasmática por medio de grupos prenilados en las subunidades βγ (**líneas onduladas**), y tal vez mediante grupos miristoilados sobre subunidades α (que no se muestran). En el momento de unión de hormona (H) al receptor, hay un cambio conformacional supuesto del receptor —según se indica por los dominios que abarcan la membrana inclinados— y activación del complejo de proteína G. Esto produce el intercambio de GDP con guanosín trifosfato (GTP) sobre la subunidad α, después de lo cual α y βγ se disocian. La subunidad α se une al efector (E) y lo activa. E puede ser adenilil ciclasa, canales de Ca^{2+}, Na^+ o Cl^- (α_s), o podría ser un canal de K^+ (α_i), fosfolipasa Cβ (α_q) o cGMP fosfodiesterasa (α_t). Asimismo, la subunidad βγ puede tener acciones directas sobre E. (Modificada y reproducida, con autorización, de Granner DK en: *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism,* 2nd ed. Becker KL [editor]. Lippincott, 1995.)

Receptores acoplados a proteína G

Muchas de las hormonas del grupo II se unen a receptores que se acoplan a efectores por medio de una **proteína de unión a GTP** (**proteínas G**) intermediaria. **Estos receptores de manera típica tienen siete dominios hidrofóbicos que abarcan la membrana plasmática**. Esto se ilustra en la **figura 42-4** por las siete hélices interconectadas que se extienden a través de la bicapa lipídica. Los receptores de esta clase, que emiten señales mediante intermediarios de proteína unida a nucleótido guanina, se conocen como **receptores acoplados a proteína G** o **GPCR**. Hasta la fecha, se han identificado cientos de genes que codifican para receptor enlazado a proteína G; esto representa la familia de mayor tamaño de receptores de superficie celular en seres humanos. Una amplia variedad de respuestas está mediada por GPCR.

El cAMP es la señal intracelular para muchas respuestas

El AMP cíclico fue la primera señal intracelular de segundo mensajero identificada en células de mamífero. Varios componentes comprenden un sistema para la generación, degradación y acción del cAMP.

Adenilil ciclasa

Diferentes hormonas peptídicas pueden estimular (s) o inhibir (i) la producción de cAMP a partir de la adenilil ciclasa, que está codificada por al menos nueve genes diferentes (**cuadro 42-2**). Dos sistemas paralelos, uno estimulador (s) y uno inhibitorio (i), convergen sobre una molécula catalítica (C). Cada uno consta de un receptor R_s o R_i, y un complejo regulador, G_s y G_i. G_s y G_i son, cada uno, **proteína G heterotrimérica compuesta de subunidades α, β y γ**. Dado que la subunidad α en G_s difiere de la que se encuentra en G_i, las proteínas, que son productos de gen separado, se designan α_s y α_i. Las subunidades α se unen a nucleótidos guanina. Las subunidades β y γ siempre están asociadas (βγ) y parecen funcionar tal como un heterodímero. La unión de una hormona a R_s o a R_i ocasiona una activación de G mediada por receptor, lo cual implica el intercambio de GDP por GTP en α, y la disociación concomitante de βγ desde α.

La proteína α_s tiene actividad de GTPasa intrínseca. La forma activa, α_s·GTP, es inactivada en el momento de la hidrólisis del GTP hacia GDP; el complejo G_s trimérico (αβγ) a continuación vuelve a formarse y está listo para otro ciclo de activación. Las toxinas del cólera y diftérica catalizan la ADP ribosilación

CUADRO 42–2 Subclasificación de las hormonas del grupo II.A

Hormonas que estimulan a la adenilil ciclasa (H_s)	Hormonas que inhiben a la adenilil ciclasa (H_i)
ACTH	Acetilcolina
ADH	α_2-Adrenérgicos
β-Adrenérgicos	Angiotensina II
Calcitonina	Somatostatina
CRH	
FSH	
Glucagón	
hCG	
LH	
LPH	
MSH	
PTH	
TSH	

CUADRO 42–3 Clases y funciones de proteínas G seleccionadas[1]

Clase o tipo	Estímulo	Effector	Efecto
G_s			
α_s	Glucagón, β-adrenérgicos	↑Adenilil ciclasa	Gluconeogénesis, lipólisis, glucogenólisis
		↑Canales de Ca^{2+}, Cl^- y Na^+ cardiacos	Olfacción
α_{olf}	Odorante	↑Adenilil ciclasa	
G_i			
$\alpha_{i-1,2,3}$	Acetilcolina, α_2-adrenérgicos	↓Adenilil ciclasa	Frecuencia cardiaca lentificada
		↑Canales de potasio	
	Colinérgicos M_2	↓Canales de calcio	
α_o	Opioides, endorfinas	↑Canales de potasio	Actividad eléctrica neuronal
α_t	Luz	↑cGMP fosfodiesterasa	Visión
G_q			
α_q	Colinérgicos M_1		
	α_1-Adrenérgicos	↑Fosfolipasa C-β1	↓Contracción muscular
			y
α_{11}	α_1-Adrenérgicos	↑Fosfolipasa C-β2	↓Presión arterial
G_{12}			
α_{12}	Trombina	Rho	Cambios de forma celular

[1] Las cuatro clases principales de familias de proteínas G de mamífero (G_s, G_i, G_q, y G_{12}) se basan en la homología de secuencia de proteína. Se muestran los miembros representativos de cada una, junto con estímulos, efectores y efectos fisiológicos bien definidos, conocidos. Se han identificado nueve isoformas de adenilil ciclasa (isoformas I a IX). Todas las isoformas son estimuladas por α_s; las isoformas α_i inhiben los tipos V y VI, y α_0 inhibe los tipos I y V. Se han identificado por lo menos 16 subunidades α diferentes.
Fuente: modificado y reproducido, con autorización, de Granner DK en: *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism,* 2nd ed. Becker KL (editor). Lippincott, 1995.

de α_s y α_{i-2} (**cuadro 42-3**), respectivamente. En el caso de α_s, esta modificación altera la actividad de GTPasa intrínseca; así, α_s no puede reasociarse con βγ y, por ende, se activa de manera irreversible. La ADP ribosilación de α_{i-2} evita la disociación entre α_{i-2} y βγ, y de este modo, no puede formarse la α_{i-2} libre. Por consiguiente, la actividad de α_s en esas células no tiene oposición.

Hay una familia grande de proteínas G, y éstas forman parte de la superfamilia de GTPasas. La familia de la proteína G se clasifica de acuerdo con la homología de secuencia en cuatro subfamilias (cuadro 42-3). Hay 21 genes que codifican para la subunidad α, cinco que codifican para la subunidad β y ocho que codifican para la subunidad γ. Diversas combinaciones de estas subunidades proporcionan un número grande de posibles complejos de αβγ y ciclasa.

Las subunidades α y el complejo βγ tienen acciones independientes de las que ocurren sobre la adenilil ciclasa (figura 42-4 y cuadro 42-3). Algunas formas de α_i estimulan a los canales de K^+ e inhiben a los de Ca^{2+}, y algunas moléculas de α_s tienen los efectos opuestos. Los miembros de la familia G_q activan al grupo de enzimas fosfolipasa C. Los complejos βγ se han asociado con la estimulación de canal de K^+ y la activación de fosfolipasa C. Las proteínas G participan en muchos procesos biológicos importantes además de acción hormonal. Los ejemplos notables son olfacción (α_{OLF}) y visión (α_t); el cuadro 42-3 lista algunos ejemplos. Los GPCR están implicados en varias enfermedades y son blancos importantes para agentes farmacológicos.

Proteína cinasa

Como se discutió en el capítulo 38, en células procarióticas, el cAMP se une a una proteína específica denominada proteína reguladora de catabolito (CRP) que se une de manera directa al DNA e influye sobre la expresión de gen. En contraste, en células eucarióticas, el cAMP se une a una proteína cinasa llamada **proteína cinasa A** (**PKA**), una molécula heterotetramérica que consta de dos subunidades reguladoras (R) y dos subunidades catalíticas (C). La unión a cAMP se traduce en la reacción que sigue:

$$4\ cAMP + R_2C_2 \rightleftarrows R_2 \cdot (4\ cAMP) + 2C$$

El complejo R_2C_2 carece de actividad enzimática, pero la unión de cAMP por R induce disociación del complejo R-C, lo que activa a este último (**figura 42-5**). La subunidad C activa cataliza la transferencia del fosfato γ del ATP hacia un residuo serina o treonina en diversas proteínas. Los sitios de fosforilación de consenso son -ArgArg/Lis-X-Ser/Tre- y -Arg-Lis-X-X-Ser-, donde X puede ser cualquier aminoácido.

Las actividades de la proteína cinasa originalmente se describieron como "dependientes de cAMP" o "independientes de cAMP". Esta clasificación ha cambiado, dado que la fosforilación de proteína ahora se reconoce como un importante mecanismo regulador. Ahora se han descrito varios cientos de proteínas cinasas. Las cinasas muestran vínculo en secuencia y estructura dentro del dominio catalítico, pero cada una tiene una molécula singular con considerable variabilidad acerca de la composición de subunidad, peso molecular, autofosforilación, K_m para ATP, y especificidad de sustrato. Las actividades tanto de cinasa como de proteína fosfatasa pueden dirigirse por medio de interacción con proteínas de unión a cinasa específicas. En el caso de la PKA, esas proteínas de dirección se denominan **proteínas fijadoras de cinasa A** (**AKAP**), sirven como anda-

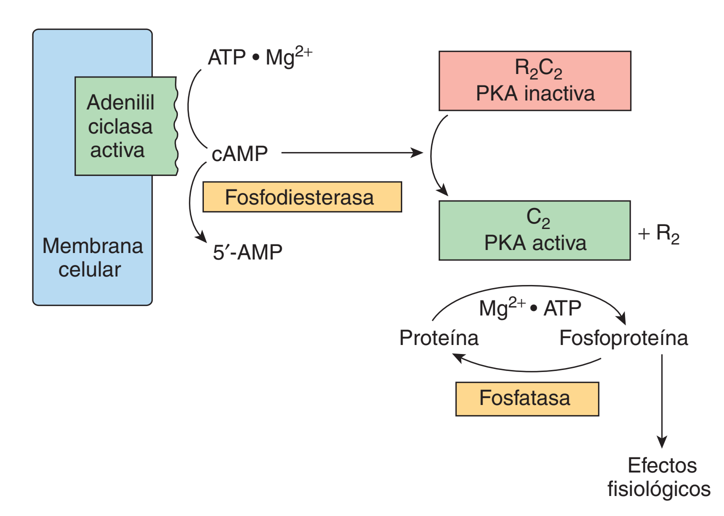


FIGURA 42–5 Regulación hormonal de procesos celulares por medio de la proteína cinasa dependiente de cAMP (PKA). La PKA existe en una forma inactiva como un heterotetrámero R_2C_2 que consta de dos subunidades reguladoras (R) y dos catalíticas (C). El cAMP generado mediante la acción de la adenilil ciclasa (activada como se muestra en la figura 42-4) se une a la subunidad reguladora de la PKA. Esto ocasiona la disociación de las subunidades reguladora y catalítica, y activación de esta última. Las subunidades catalíticas activas fosforilan varias proteínas blanco sobre residuos serina y treonina. Las fosfatasas eliminan fosfato de estos residuos y, así, terminan la respuesta fisiológica. Una fosfodiesterasa también puede terminar la respuesta al convertir cAMP en 5′-AMP.

mios, que localizan la PKA cerca de sustratos, lo que enfoca la actividad de PKA hacia sustratos fisiológicos y facilita la regulación biológica espaciotemporal, mientras que también permite que proteínas comunes, compartidas, desencadenen respuestas fisiológicas específicas. Se han descrito múltiples AKAP; pueden unirse a la PKA y otras cinasas, así como a fosfatasas, fosfodiesterasas (que hidrolizan el cAMP) y sustratos de proteína cinasa.

Fosfoproteínas

Se cree que todos los efectos del cAMP en células eucarióticas están mediados por fosforilación-desfosforilación de proteína, de manera particular sobre residuos serina y treonina. El control de cualquiera de los efectos del cAMP, incluso procesos tan diversos como la esteroidogénesis, secreción, transporte de ion, metabolismo de carbohidrato y grasa, inducción de enzima, regulación de gen, transmisión sináptica, y crecimiento y replicación celulares, podría ser conferido por una proteína cinasa específica, por una fosfatasa específica, o por sustratos específicos para fosforilación. Estos sustratos ayudan a definir un tejido blanco, y están involucrados en la definición de la magnitud de una respuesta particular dentro de una célula dada; por ejemplo, los efectos del cAMP sobre la transcripción de gen están mediados por la **proteína de unión al elemento de respuesta al AMP cíclico** (**CREB**). La CREB se une al elemento con capacidad de respuesta a cAMP (CRE) (cuadro 42-1) en su estado no fosforilado y es un activador débil de la transcripción. Cuando es fosforilada por PKA, la CREB se une al coactivador **proteína de unión a CREB CBP/p300** (véase más adelante) y como resultado es un activador mucho más potente de la transcripción. La CBP y la p300 relacionada contienen actividades de histona acetiltransferasa y, por tanto, sirven como correguladores transcripcionales activos de la cromatina (ver caps. 36 y 38). Es interesante que la CBP/p300 también puede acetilar ciertos factores de transcripción, lo que estimula su capacidad para unirse a DNA y modular la transcripción.

Fosfodiesterasas

Las acciones producidas por hormonas que aumentan la concentración de cAMP pueden terminarse de diversos modos, entre ellos la hidrólisis de cAMP hacia 5′-AMP mediante fosfodiesterasas (figura 42-5). La presencia de estas enzimas hidrolíticas asegura un recambio veloz de la señal (cAMP) y, en consecuencia, una terminación rápida del proceso biológico una vez que se elimina el estímulo hormonal. Hay al menos 11 miembros conocidos de la familia de enzimas fosfodiesterasa, los cuales se encuentran sujetos a regulación por sus sustratos, cAMP y cGMP; por hormonas, y por mensajeros intracelulares, como calcio, que probablemente actúan por medio de la calmodulina. Los inhibidores de la fosfodiesterasa, entre los que destacan los derivados de xantina metilados, como la cafeína, incrementan el cAMP intracelular e imitan o prolongan las acciones de hormonas mediante esta señal.

Fosfoproteína fosfatasas

Dada la importancia de la fosforilación de proteína, no sorprende que la regulación de la reacción de desfosforilación de proteína sea otro mecanismo de control importante (figura 42-5). Las fosfoproteína fosfatasas están sujetas por sí mismas a regulación por medio de reacciones de fosforilación-desfosforilación, y por varios otros mecanismos, como interacciones entre una proteína y otra. De hecho, la especificidad de sustrato de las fosfoserina-fosfotreonina fosfatasas tal vez esté dictada por subunidades reguladoras distintas cuya unión está regulada de manera hormonal. Una de las funciones mejor estudiadas de la regulación mediante la desfosforilación de proteínas es la del metabolismo de glucógeno en el músculo. Se han descrito dos tipos principales de fosfoserina-fosfotreonina fosfatasas. El tipo I desfosforila de preferencia la subunidad β de la fosforilasa cinasa, mientras que el tipo II desfosforila la subunidad α. La fosfatasa tipo I está implicada en la regulación de la glucógeno sintasa, fosforilasa y fosforilasa cinasa; esta fosfatasa en sí está regulada por medio de fosforilación de algunas de sus subunidades, y estas reacciones se revierten mediante la acción de una de las fosfatasas tipo II. Además, dos inhibidores de proteína termoestables regulan la actividad de la fosfatasa tipo I. Proteína cinasas dependientes de cAMP fosforilan y activan al inhibidor-1; el inhibidor-2, que puede ser una subunidad de la fosfatasa inactiva, también es fosforilado, posiblemente por la glucógeno sintasa cinasa-3. Asimismo, las fosfatasas que atacan la fosfotirosina tienen importancia en la transducción de señal (figura 42-8).

El cGMP también es una señal intracelular

El GMP cíclico se sintetiza a partir del GTP por medio de la enzima guanilil ciclasa, que existe en formas soluble y unida a membrana. Cada una de estas isozimas tiene propiedades fisio-

lógicas singulares. Las atriopeptinas son una familia de péptidos producida en tejidos auriculares del corazón, originan natriuresis, vasodilatación e inhibición de la secreción de aldosterona. Estos péptidos (p. ej., factor natriurético auricular) se unen a la forma unida a membrana de la guanilil ciclasa, y la activan. Esto causa un aumento del cGMP en algunos casos de hasta 50 veces, y se cree que esto media los efectos mencionados. Otra evidencia enlaza al cGMP con vasodilatación. Una serie de compuestos, entre ellos nitroprusiato, nitroglicerina, óxido nítrico, nitrito de sodio y azida de sodio, suscitan relajación de músculo liso y son potentes vasodilatadores. Estos agentes incrementan el cGMP al activar la forma soluble de la guanilil ciclasa, y los inhibidores de la cGMP fosfodiesterasa (p. ej., el fármaco sildenafil [Viagra]) aumentan estas respuestas y las prolongan. El cGMP incrementado activa a la proteína cinasa dependiente de cGMP (PKG) que, a su vez, fosforila diversas proteínas del músculo liso. Es probable que esto participe en la relajación del músculo liso y en la vasodilatación.

Varias hormonas actúan mediante calcio o fosfatidilinositoles

El calcio ionizado es un importante regulador de diversos procesos celulares, entre ellos la contracción muscular, el acoplamiento entre estímulo y secreción, la cascada de coagulación de la sangre, actividad enzimática y excitabilidad de membrana. También es un mensajero intracelular de la acción de hormona.

Metabolismo del calcio

La concentración extracelular de calcio (Ca^{2+}) es de alrededor de 5 mmol/L y está controlada de modo muy rígido. Aun cuando cantidades considerables de calcio están asociadas con organelos intracelulares como las mitocondrias y el retículo endoplásmico, la concentración intracelular de calcio (Ca^{2+}) libre o ionizado es muy baja: 0.05 a 10 μmol/L. A pesar de este gradiente de concentración grande y un gradiente eléctrico transmembrana favorable, la entrada del Ca^{2+} a la célula está restringida. Se gasta una considerable cantidad de energía para asegurar que el Ca^{2+} intracelular esté controlado, puesto que un aumento prolongado del Ca^{2+} en la célula es muy tóxico. Un mecanismo de intercambio de Na^+/Ca^{2+} que tiene una capacidad alta pero afinidad baja bombea Ca^{2+} hacia afuera de las células. Asimismo, hay una bomba de Ca^{2+}/protón dependiente de ATPasa que extrude Ca^{2+} en intercambio por H^+. Esto tiene afinidad alta por el Ca^{2+}, pero capacidad baja, y probablemente se encarga del ajuste fino del Ca^{2+} citosólico. Más aún, las Ca^{2+}-ATPasas bombean Ca^{2+} desde el citosol hacia la luz del retículo endoplásmico. Hay tres maneras de cambiar el Ca^{2+} citosólico: 1) ciertas hormonas (clase II.C, cuadro 41-3), al unirse a receptores que son ellos mismos canales de Ca^{2+}, incrementan la permeabilidad de la membrana a Ca^{2+} y, de este modo, aumentan el flujo de Ca^{2+} hacia adentro. 2) Las hormonas también promueven de manera indirecta el flujo de Ca^{2+} hacia adentro al modular el potencial de membrana en la membrana plasmática. La despolarización de membrana abre canales de Ca^{2+} activados por voltaje, y permite el flujo de Ca^{2+} hacia adentro. 3) El Ca^{2+} puede movilizarse desde el retículo endoplásmico y posiblemente desde fondos comunes mitocondriales.

CUADRO 42–4 Enzimas y proteínas reguladas por calcio o calmodulina

• Adenilil ciclasa
• Proteína cinasas dependientes de Ca^{2+}
• Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATPasa
• Proteína cinasa dependiente de Ca^{2+}-fosfolípido
• Nucleótido cíclico fosfodiesterasa
• Algunas proteínas citoesqueléticas
• Algunos canales de ion (p. ej., canales de calcio tipo L)
• Óxido nítrico sintasa
• Fosforilasa cinasa
• Fosfoproteína fosfatasa 2B
• Algunos receptores (p. ej., receptor de glutamato tipo NMDA)

Una observación importante que enlaza el Ca^{2+} con la acción de hormona involucró la definición de blancos intracelulares de la acción del Ca^{2+}. El descubrimiento de un regulador de la actividad de fosfodiesterasa dependiente de Ca^{2+} proporcionó la base para un entendimiento amplio de cómo el Ca^{2+} y el cAMP interactúan dentro de las células.

Calmodulina

Es la proteína reguladora dependiente del calcio, una proteína de 17 kDa homóloga en estructura y función a la proteína muscular troponina C. La calmodulina tiene cuatro sitios de unión a Ca^{2+}, y la ocupación completa de estos sitios da pie a un notorio cambio conformacional, que permite que la calmodulina active enzimas y canales de ion. La interacción entre Ca^{2+} y calmodulina (con el cambio de actividad resultante de esta última) es similar desde el punto de vista conceptual a la unión del cAMP a PKA y la activación subsiguiente de esta molécula. La calmodulina puede ser una de muchas subunidades de proteínas complejas y participa de forma especial en la regulación de diversas cinasas y enzimas de generación y degradación de nucleótido cíclico. El **cuadro 42-4** presenta una lista parcial de las enzimas reguladas de modo directo o indirecto por el Ca^{2+}, probablemente por medio de la calmodulina.

Además de sus efectos sobre enzimas y sobre el transporte de ion, el Ca^{2+}/calmodulina regula la actividad de muchos elementos estructurales en las células. Entre ellos se incluyen el complejo de actina-miosina del músculo liso, que está bajo control β-adrenérgico, y diversos procesos mediados por microfilamento en células no contráctiles, entre ellos la motilidad celular, cambios de conformación de célula, mitosis, liberación de gránulos, y endocitosis.

El calcio es un mediador de la acción hormonal

Una función del Ca^{2+} en la acción hormonal es sugerida por la observación de que el efecto de muchas hormonas: 1) es disminuido por medios libres de Ca^{2+} o cuando el calcio intracelular se agota; 2) puede imitarse mediante agentes que incrementan el Ca^{2+} citosólico, como el ionóforo de Ca^{2+} A23187, y 3) influye sobre el flujo de calcio celular. La regulación del metabolismo

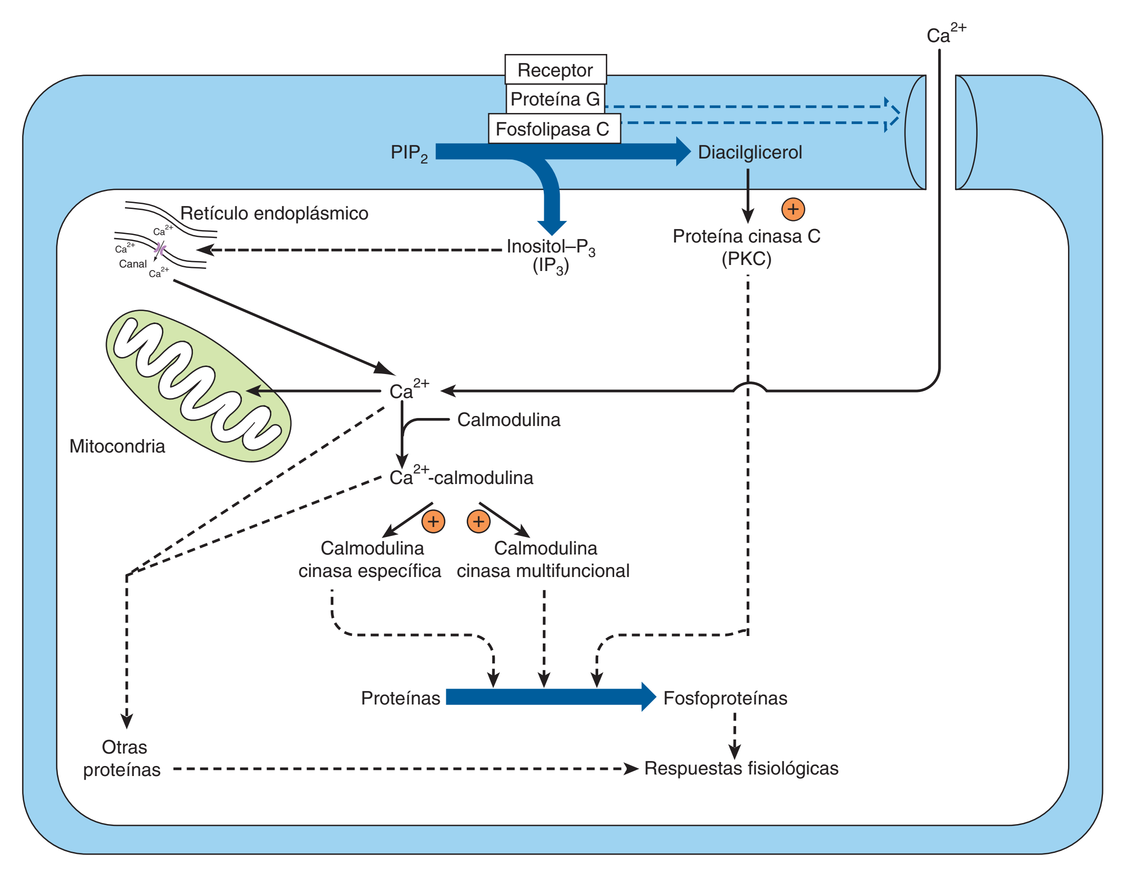


FIGURA 42-6 Ciertas interacciones entre hormona y receptor se traducen en la activación de la fosfolipasa C (PLC). Esto parece incluir una proteína G específica, que también puede activar un canal de calcio. La fosfolipasa C genera trifosfato de inositol (IP_3), que libera Ca^{2+} intracelular almacenado, y diacilglicerol (DAG), un potente activador de la proteína cinasa C (PKC). En este esquema, la PKC activada fosforila sustratos específicos, que luego alteran procesos fisiológicos. De igual manera, el complejo de Ca^{2+}-calmodulina puede activar cinasas específicas, dos de las cuales se muestran aquí. Estas acciones originan fosforilación de sustratos, y esto da pie a respuestas fisiológicas alteradas. Asimismo, esta figura muestra que el Ca^{2+} puede entrar a las células a través de canales de Ca^{2+} activados por voltaje o por ligando. El Ca^{2+} intracelular también está regulado por medio de almacenamiento y liberación por las mitocondrias y el retículo endoplásmico. (Cortesía de JH Exton.)

del glucógeno en el hígado por medio de la vasopresina y catecolaminas β-adrenérgicas proporciona un buen ejemplo. Esto se muestra de manera esquemática en las figuras 19-6 y 19-7.

Diversas enzimas metabólicas cruciales se regulan mediante Ca^{2+}, fosforilación, o ambos, entre ellas la glucógeno sintasa, piruvato cinasa, piruvato carboxilasa, glicerol-3-fosfato deshidrogenasa y piruvato deshidrogenasa.

El metabolismo de la fosfatidilinositida afecta la acción de hormonas dependientes de Ca^{2+}

Alguna señal debe proporcionar comunicación entre el receptor de hormona en la membrana plasmática y los reservorios de Ca^{2+} intracelular. Esto se logra por medio de productos del metabolismo del fosfatidilinositol. Los receptores de superficie celular, como los receptores para acetilcolina, hormona antidiurética y catecolaminas tipo α_1 son, cuando están ocupados por sus ligandos respectivos, potentes activadores de la fosfolipasa C. La unión a receptor y la activación de fosfolipasa C están acopladas mediante las isoformas G_q (cuadro 42-3 y **figura 42-6**). La fosfolipasa C cataliza la hidrólisis del fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato hacia inositol trifosfato (IP_3) y 1,2-diacilglicerol (**figura 42-7**). El diacilglicerol en sí tiene la capacidad para activar a la **proteína cinasa C** (**PKC**), cuya actividad también de-

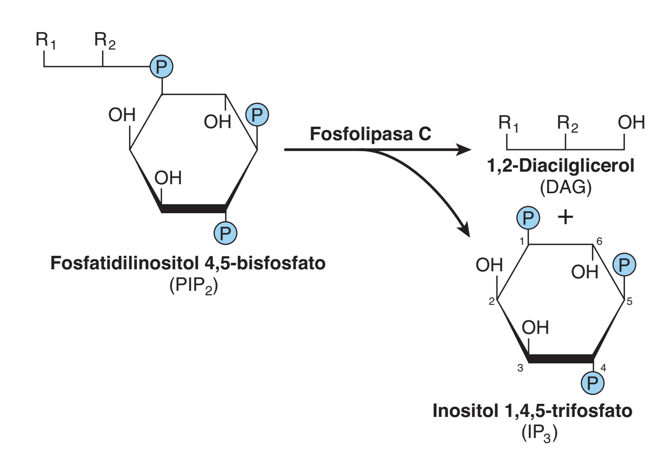


FIGURA 42–7 La fosfolipasa C divide el PIP_2 hacia diacilglicerol y trifosfato de inositol. R_1 generalmente es estearato, y R_2 por lo general es araquidonato. IP_3 se puede desfosforilar (hacia el I-1,4-P_2 inactivo) o fosforilar (hacia el I-1,3,4,5-P_4 en potencia activo).

pende de Ca^{2+}. El IP_3, al interactuar con un receptor intracelular específico, es un liberador eficaz de Ca^{2+} desde sitios de almacenamiento intracelulares en el retículo endoplásmico. Así, la hidrólisis del fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato lleva a la activación de PKC y promueve un aumento del Ca^{2+} citoplásmico. Asimismo, la activación de las proteínas G puede tener una acción directa sobre los canales de Ca^{2+} (figura 42-4). Los incrementos resultantes del Ca^{2+} citosólico activan cinasas dependientes de Ca^{2+}-calmodulina y muchas otras enzimas dependientes de Ca^{2+}-calmodulina.

Los agentes esteroidogénicos, entre ellos ACTH y cAMP en la corteza suprarrenal; la angiotensina II, el K^+, la serotonina, la ACTH y el cAMP en la zona glomerulosa de las suprarrenales; la LH en los ovarios, y la LH y el cAMP en las células de Leydig de los testículos, se han relacionado con cantidades aumentadas de ácido fosfatídico, fosfatidilinositol y polifosfoinositidas (cap. 15) en los tejidos blanco respectivos; podrían citarse varios otros ejemplos.

La figura 42-6 presenta las funciones que el Ca^{2+} y los productos de desintegración de la polifosfoinositida podrían tener en la acción hormonal. En este esquema, la proteína cinasa C activada es capaz de fosforilar sustratos específicos, que después alteran procesos fisiológicos. De igual modo, el complejo de Ca^{2+}-calmodulina puede activar cinasas específicas. Éstas a continuación modifican sustratos y, de esta manera, alteran respuestas fisiológicas.

Algunas hormonas actúan por medio de una cascada de proteína cinasa

Proteínas cinasas únicas, como PKA, PKC y Ca^{2+}-calmodulina (CaM)-cinasas, que producen fosforilación de los residuos serina y treonina en proteínas blanco, tienen una participación muy importante en la acción de hormonas. El descubrimiento de que el receptor de EGF contiene una actividad de tirosina cinasa intrínseca que es activada mediante la unión del ligando EGF, fue un avance importante. Los receptores de insulina y de IGF-1 también contienen actividad intrínseca de tirosina cinasa activada por ligando. Varios receptores —en general los que participan en la unión de ligandos involucrados en el control del crecimiento, la diferenciación y la respuesta inflamatoria— tienen actividad intrínseca de tirosina cinasa o muestran vínculo con proteínas que son tirosina cinasas. Otra característica distintiva de esta clase de acción hormonal es que estas cinasas fosforilan de preferencia residuos tirosina, y la fosforilación de tirosina es poco frecuente (<0.03% de la fosforilación total de aminoácidos) en células de mamífero. Una tercera característica distintiva es que la interacción entre ligando y receptor que ocasiona un evento de fosforilación de tirosina inicia una cascada que puede comprender varias proteínas cinasas, fosfatasas y otras proteínas reguladoras.

La insulina transmite señales por medio de varias cascadas de cinasa

Los receptores de insulina, **factor de crecimiento epidérmico** (**EGF**) e **IGF-1 tienen actividades intrínsecas de proteína tirosina cinasa localizadas en sus dominios citoplásmicos**. Estas actividades son estimuladas cuando el receptor se une a ligando. Los receptores a continuación se autofosforilan en residuos tirosina y esto inicia una compleja serie de eventos (que se resumen en forma simplificada en la **figura 42-8**). El receptor de insulina fosforilado a continuación fosforila sustratos de receptor de insulina (hay por lo menos cuatro de estas moléculas, llamadas IRS 1 a 4) sobre residuos tirosina. El IRS fosforilado se une a los dominios de homología Src 2 (SH2) de diversas proteínas que participan de modo directo en la mediación de diferentes efectos de la insulina. Una de estas proteínas, la PI-3 cinasa, enlaza la activación del receptor de insulina con acción de insulina mediante la activación de diversas moléculas, entre ellas la cinasa dependiente de fosfoinositida-1 (PDK1). Esta enzima propaga la señal a través de varias otras cinasas, entre ellas PKB (también conocida como AKT), SKG y aPKC (véanse las definiciones y el significado de las abreviaturas en el pie de la figura 42-8). Una vía alternativa torrente abajo desde PDK1 incluye p70S6K, y quizá otras cinasas aún no identificadas. Una segunda vía importante comprende mTOR, enzima que está regulada de manera directa por las concentraciones de aminoácidos e insulina, y es esencial para la actividad de p70S6K; esta vía proporciona una distinción entre las ramas de PKB y p70S6K torrente abajo desde PKD1. Tales vías participan en la translocación de proteína, la actividad de enzima y la regulación, por medio de insulina, de genes involucrados en el metabolismo (figura 42-8). Otra proteína que contiene dominio SH2 es la GRB2, que se une a IRS-1 y enlaza la fosforilación de tirosina a varias proteínas, cuyo resultado es la activación de una cascada de treonina y serina cinasas. La figura 42-8 ilustra una vía que muestra cómo esta interacción entre insulina y receptor activa la vía de la proteína activada por mitógeno (MAP) cinasa y los efectos anabólicos de la insulina. Quedan por establecerse las funciones precisas de muchas de estas proteínas de acoplamiento, cinasas y fosfatasas.

Hormonas y citocinas usan la vía de la Jak/STAT

La activación de tirosina cinasa también puede iniciar una cascada de fosforilación y desfosforilación que incluye la acción de varias otras proteína cinasas y las acciones contraequilibrantes de las fosfatasas. Se emplean dos mecanismos para iniciar esta cascada. Algunas hormonas, como la hormona de crecimiento, prolactina, eritropoyetina y las citocinas, inician su acción al activar una tirosina cinasa, pero su actividad no es una parte integral del receptor de hormona. La interacción entre hormona y receptor promueve la unión y activación de **proteínas tirosina cinasas citoplásmicas**, como **Tyk-2**, **Jak1** o **Jak2**.

Dichas cinasas fosforilan una o más proteínas citoplásmicas, que luego se asocian con otras proteínas de acoplamiento mediante unión a dominios SH2. Una interacción de ese tipo se traduce en la activación de una familia de proteínas citosólicas denominadas **transductores de señal y activadores de transcripción** (**STAT**). La proteína STAT fosforilada se dimeriza y transloca hacia el núcleo, se une a un elemento de DNA específico, como el elemento de respuesta a interferón (IRE), y activa

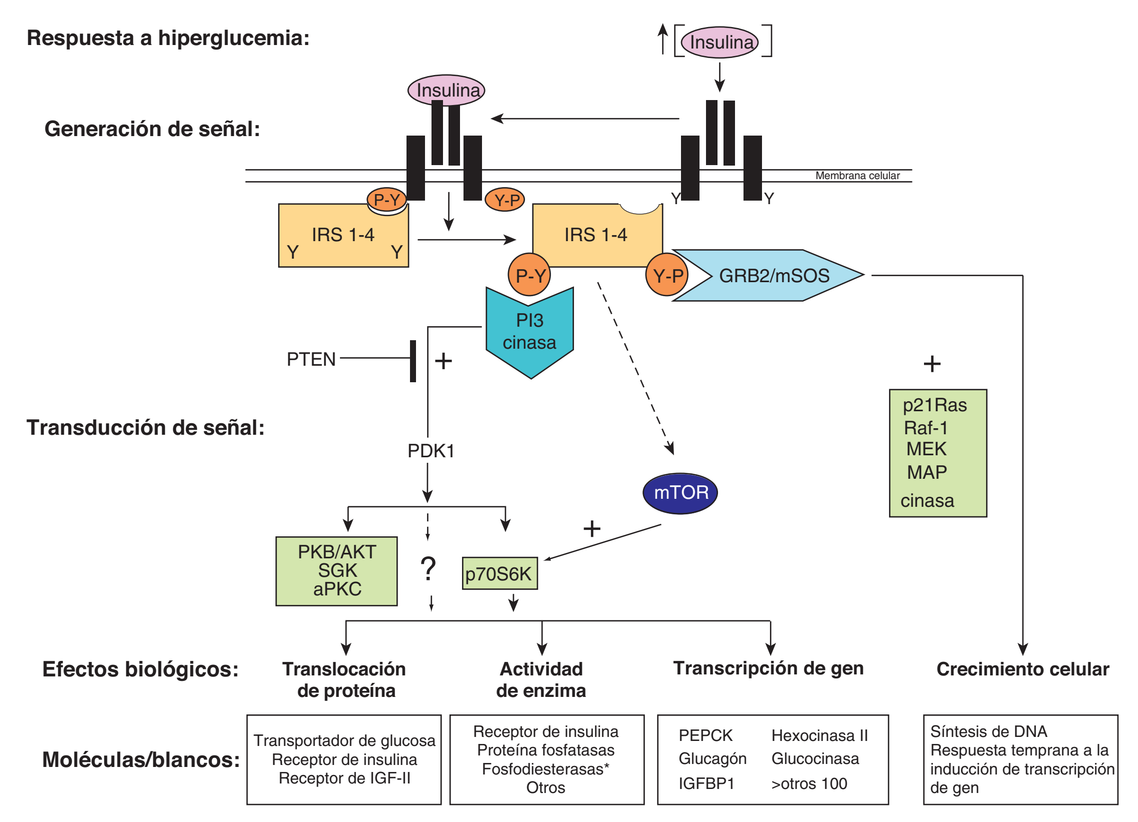


FIGURA 42–8 Vías de emisión de señales de insulina. Las vías de emisión de señales de insulina proporcionan un excelente ejemplo del paradigma "reconocimiento → liberación de hormona → generación de señal → efectos" esbozado en la figura 42-1. La insulina es liberada hacia el torrente sanguíneo desde las células β pancreáticas en respuesta a hiperglucemia. La unión de la insulina a un receptor de insulina (IR) heterotetramérico en la membrana plasmática específico para la célula blanco da lugar a una cascada de eventos intracelulares. En primer lugar, la actividad de tirosina cinasa intrínseca del receptor de insulina es activada, y marca el evento inicial. La activación de receptor da lugar a incremento de la fosforilación de tirosina (conversión de residuos Y específicos → Y-P) dentro del receptor. A continuación, una o más de las moléculas de sustrato receptor de insulina (IRS) (IRS 1-4) se unen al receptor tirosina-fosforilado, y ellas mismas son tirosina-fosforiladas de manera específica. Las proteínas IRS interactúan con el IR activado mediante dominios PH (homología de plekstrina) y PTB (unión a fosfotirosina) N terminal. Las proteínas IRS acopladas a IR son tirosina-fosforiladas, y los residuos P-Y resultantes forman los sitios de acoplamiento para varias proteínas emisoras de señales adicionales (esto es, PI-3 cinasa, GRB2 y mTOR). GRB2 y PI3K se unen a residuos P-Y de IRS por medio de sus dominios SH (homología *Src*). La unión a residuos IRS-Y-P lleva a activación de la actividad de muchas moléculas emisoras de señales intracelulares, como GTPasas, proteína cinasas y lípido cinasas, todas las cuales desempeñan papeles clave en ciertas acciones metabólicas de la insulina. Se muestran las dos vías mejor descritas. En detalle, la fosforilación de una molécula de IRS (probablemente IRS-2) da por resultado acoplamiento y activación de la lípido cinasa, PI-3 cinasa. La PI-3K genera lípidos inositol nuevos que actúan como moléculas "segundo mensajero". Éstas, a su vez, activan PDK1 y después varias moléculas emisoras de señales torrente abajo, incluso proteína cinasa B (PKB/AKT). SGK y aPKC. Una vía alternativa comprende la activación de p70S6K y quizá otras cinasas todavía no identificadas. A continuación, la fosforilación de IRS (probablemente IRS-1) da por resultado acoplamiento de GRB2/mSOS y activación de la GTPasa pequeña, p21Ras, e inicia una cascada de proteína cinasa que activa Raf-1, MEK, y las isoformas p42/p44 de MAP cinasa. Estas proteína cinasas son importantes en la regulación de la proliferación de muchos tipos de células y la diferenciación de los mismos. La vía mTOR proporciona una vía alternativa de activación de p70S6K y parece estar involucrada en la emisión de señales de nutriente, así como en la acción de la insulina. Cada una de estas cascadas puede influir sobre procesos fisiológicos diferentes, como se muestra. Todos los eventos de fosforilación son reversibles por medio de la acción de fosfatasas específicas. Por ejemplo, la lípido fosfatasa PTEN desfosforila el producto de la reacción de la PI-3 cinasa, lo que antagoniza la vía y termina la señal. Los efectos representativos de acciones importantes de la insulina se muestran en cada uno de los recuadros. El asterisco después de la fosfodiesterasa indica que la insulina afecta de manera indirecta la actividad de muchas enzimas al activar fosfodiesterasas y reducir la concentración intracelular de cAMP. (aPKC, proteína cinasa C atípica; GRB2, proteína de unión a receptor de factor de crecimiento 2; IGFBP, proteína de unión a factor de crecimiento tipo insulina; IRS 1-4, isoformas de sustrato receptor de insulina 1-4; MAP cinasa, proteína cinasa activada por mitógeno; MEK, MAP cinasa cinasa y ERK cinasa; mSOS, *son of sevenless* de mamífero; mTOR, blanco de rapamicina de mamífero; p70S6K, proteína ribosómica p70 S6 cinasa; PDK1, cinasa dependiente de fosfoinositida; PI-3 cinasa, fosfatidilinositol 3-cinasa; PKB, proteína cinasa B; PTEN, fosfatasa y homólogo de tensina que fue objeto de deleción en el cromosoma 10; SGK, cinasa regulada por suero y glucocorticoide.)

la transcripción (**figura 42-9**). Otros eventos de acoplamiento de SH2 pueden dar por resultado la activación de PI-3 cinasa, la vía de la MAP cinasa (por medio de SHC o GRB2), o activación (mediada por proteína G) de fosfolipasa C (PLCγ) con la producción acompañante de diacilglicerol y activación de la proteína cinasa C. Está claro que hay potencial de "interferencia" cuando diferentes hormonas activan estas diversas vías de transducción de señal.

La vía de NF-κB está regulada por glucocorticoides

El factor de transcripción **NF-κB es un complejo heterodimérico** típicamente compuesto de dos **subunidades llamadas p50 y p65** (**figura 42-10**). En circunstancias normales, el NF-κB se mantiene secuestrado en el citoplasma en una forma inactiva en el aspecto transcripcional por miembros de la **familia del inhi-**

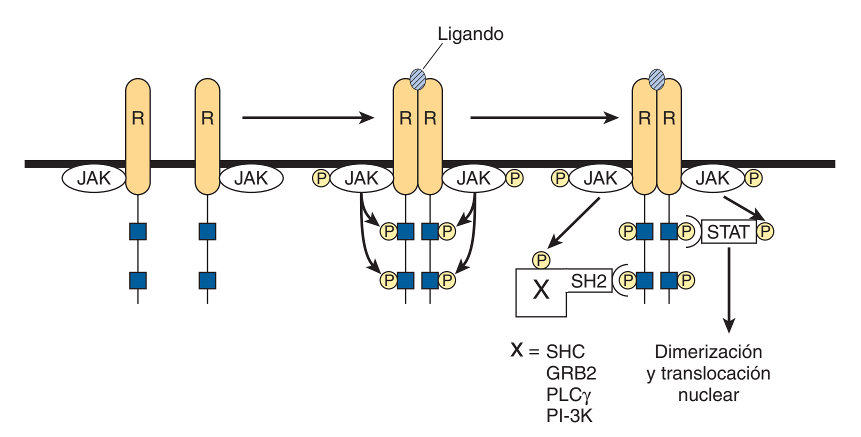


FIGURA 42–9 Inicio de transducción de señal por receptores enlazados a cinasas Jak. Los receptores (R) que se unen a la prolactina, hormona de crecimiento, interferones y citocinas carecen de tirosina cinasa endógena. En el momento de unión a ligando, estos receptores se dimerizan y una proteína asociada (Jak1, Jak2 o TYK) se fosforila. Jak-P, una cinasa activa, fosforila el receptor sobre residuos tirosina. Las proteínas STAT se asocian con el receptor fosforilado y luego son fosforiladas ellas mismas por Jak-P. STAT Ⓟ se dimeriza, se transloca hacia el núcleo, se une a elementos de DNA específicos, y regula la transcripción. Los residuos fosfotirosina del receptor también se unen a varias proteínas que contienen dominio SH2 (X-SH2). Esto se traduce en activación de la vía de la MAP cinasa (por medio de SHC o GRB2), PLCγ o PI-3 cinasa.

bidor de NF-κB (**IκB**). Estímulos extracelulares, como citocinas proinflamatorias, especies de oxígeno reactivas, y mitógenos, conducen a la activación del complejo de IκB cinasa, IKK, que es una estructura heterohexamérica que consta de subunidades α, β y γ. IKK fosforila a IκB sobre dos residuos serina, y esto establece a IκB como blanco para ubiquitinación y degradación subsiguiente por el proteasoma. Después de la degradación de IκB, el NF-κB libre se transloca hacia el núcleo, donde se une a diversos promotores de gen y activa la transcripción, en particular de genes involucrados en la **respuesta inflamatoria**. La regulación transcripcional por NF-κB está mediada por diversos coactivadores, como proteína de unión a CREB (CBP), como se describe más adelante (figura 42-13).

Las **hormonas glucocorticoides** son agentes útiles desde el punto de vista terapéutico para el tratamiento de diversas enfermedades inflamatorias y autoinmunitarias. Sus acciones antiinflamatorias e inmunorreguladoras se explican en parte por la inhibición de NF-κB y sus acciones subsiguientes. Se ha presentado evidencia de tres mecanismos para la inhibición de NF-κB por glucocorticoides: 1) los glucocorticoides incrementan el mRNA que codifica para IκB, lo que da pie a un aumento de la proteína IKB y secuestro más eficiente de NF-κB en el citoplasma. 2) El receptor de glucocorticoide compite con el NF-κB para la unión a coactivadores. 3) El receptor de glucocorticoide se une de modo directo a la subunidad p65 del NF-κB, e inhibe su activación (figura 42-10).

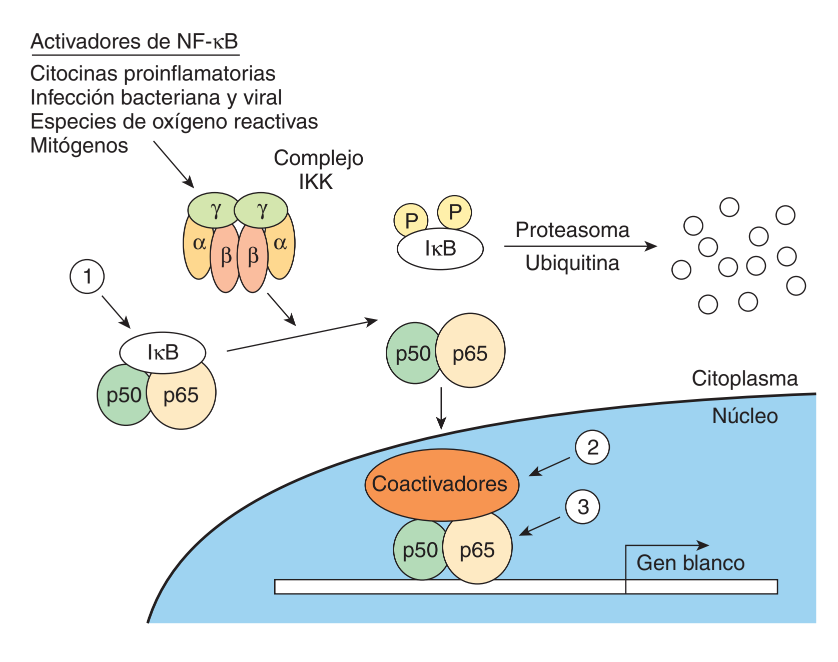


FIGURA 42–10 Regulación de la vía del NF-κB. El NF-κB consta de dos subunidades, p50 y p65, que cuando están presentes en el núcleo regulan la transcripción de la multitud de genes importantes para la respuesta inflamatoria. El IκB, un inhibidor del NF-κB, restringe la entrada de este último al núcleo. El IκB se une a —y enmascara— la señal de localización nuclear de NF-κB. Esta proteína citoplásmica es fosforilada mediante un complejo IKK que se activa por citocinas, especies de oxígeno reactivas y mitógenos. El IκB fosforilado se puede ubiquitinizar y degradar, lo que libera su sujeción sobre NF-κB. Se cree que los glucocorticoides, potentes antiinflamatorios, afectan al menos tres pasos en este proceso (1, 2, 3) (véase el texto).

LAS HORMONAS PUEDEN INFLUIR SOBRE EFECTOS BIOLÓGICOS ESPECÍFICOS AL MODULAR LA TRANSCRIPCIÓN

Las señales generadas como se describió tienen que traducirse hacia una acción que permite a la célula adaptarse con eficacia a un desafío (figura 42-1). Gran parte de esta adaptación se logra mediante alteraciones de los índices de transcripción de genes específicos. Muchas observaciones diferentes han llevado a la opinión actual de cómo las hormonas afectan la transcripción. Algunas de éstas son como sigue: 1) los genes transcritos de manera activa están en regiones de cromatina "abierta" (definida experimentalmente como una susceptibilidad relativa a la enzima DNasa I), lo que permite el acceso de factores de transcripción a DNA. 2) Los genes tienen regiones reguladoras, y los factores de transcripción se unen a éstos para modular la frecuencia del inicio de transcripción. 3) El complejo de hormona y receptor puede ser uno de estos factores de transcripción. La secuencia de DNA a la cual se une esto se denomina elemento de respuesta a HRE; véanse ejemplos en el cuadro 42-1. 4) De modo alternativo, otras señales generadas por hormona pueden modificar la localización, cantidad o actividad de factores de transcripción y, de esta manera, influir sobre la unión al elemento regulador o de respuesta. 5) Los miembros de una superfamilia grande de receptores nucleares actúan con los receptores de hormona descritos antes, o de un modo análogo a los mismos. 6) Estos receptores nucleares interactúan con otro grupo grande de moléculas correguladoras para efectuar cambios en la transcripción de genes específicos.

Se han definido varios elementos de respuesta a hormona (HRE)

Los HRE semejan elementos potenciadores por cuanto no dependen de manera estricta de la posición y ubicación u orientación. Regularmente se encuentran dentro de algunos cientos de nucleótidos torrente arriba (5′) del sitio de inicio de la transcripción, pero pueden estar ubicados dentro de la región codificadora del gen, en intrones. Los HRE se definieron por medio de la estrategia que se ilustra en la figura 38-11. Se llegó a las secuencias de consenso ilustradas en el cuadro 42-1 mediante el análisis de muchos genes regulados por una hormona dada usando sistemas reportero heterólogos simples (figura 38-10). Si bien estos HRE simples se unen al complejo de hormona-receptor con mayor avidez que el DNA circundante —o el DNA de una fuente no relacionada— y confieren capacidad de respuesta hormonal a un gen reportero, pronto quedó de manifiesto que los circuitos reguladores de genes naturales deben ser bastante más complicados. Los glucocorticoides, las progestinas, los mineralocorticoides y los andrógenos tienen acciones fisiológicas muy diferentes. ¿De qué modo la especificidad requerida para estos efectos se logra por medio de regulación de la expresión de gen mediante el mismo HRE (cuadro 42-1)? Preguntas como ésta han llevado a experimentos que han permitido la elaboración de un modelo de regulación de la transcripción muy complejo. Por ejemplo, el HRE debe asociarse con otros elementos del DNA (y proteínas de unión asociadas) para que funcione de manera óptima. La extensa similitud de secuencia notada entre los receptores de hormona esteroide, especialmente en sus dominios de unión a DNA (DBD), llevó al descubrimiento de la **superfamilia de receptor nuclear** de proteínas. Éstas —y un gran número de **proteínas correguladoras**— permiten una amplia variedad de interacciones entre DNA y proteína, y entre una proteína y otra, y la especificidad necesaria para control fisiológico muy regulado. La **figura 42-11** ilustra un esquema de ese tipo de montaje.

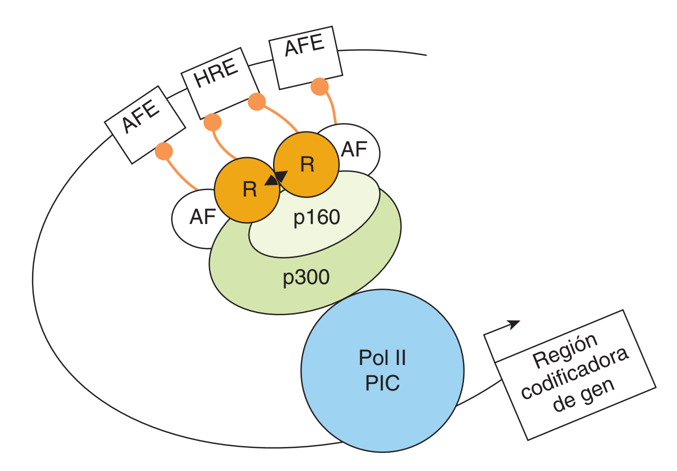
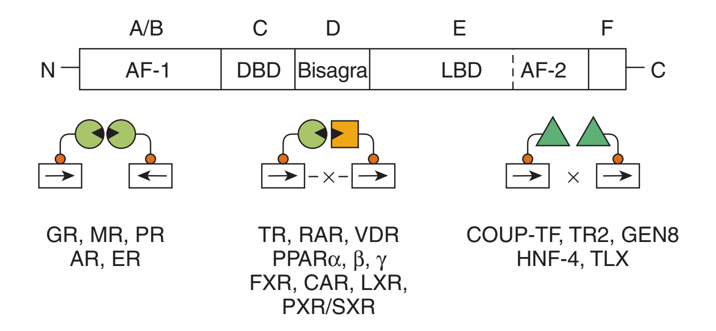


FIGURA 42–11 La unidad de transcripción de respuesta a hormona. Esta unidad es un montaje de elementos de DNA y proteínas unidas que interactúan, por medio de interacciones entre una proteína y otra, con diversas moléculas coactivadoras o correpresoras. Un componente esencial es el elemento de respuesta a hormona que se une al receptor (R) unido a ligando (▲). Asimismo, son importantes los elementos de factor accesorio (AFE) con los factores de transcripción unidos. Más de dos docenas de estos factores accesorios (AF), que suelen ser miembros de la superfamilia de receptor nuclear, se han enlazado con efectos hormonales sobre la transcripción. Los AF pueden interactuar entre sí, con los receptores nucleares que tienen ligando, o con correguladores. Estos componentes se comunican con la maquinaria de transcripción basal, formando la polimerasa II PIC (es decir, RNAP II y GTF) mediante un complejo corregulador que puede constar de uno o más miembros de las familias p160, correpresor, vinculado con mediador o CBP/p300 (cuadro 42-6). Recuerde que muchos de los correguladores de la transcripción portan actividades enzimáticas intrínsecas, que modifican de manera covalente el DNA, proteínas de transcripción, y las histonas presentes en los nucleosomas (que no se muestran aquí) en el potenciador (HRE, AFE) y el promotor, y alrededor de los mismos (caps. 36, 38). En conjunto, la hormona, el receptor de hormona, la cromatina, el DNA y la maquinaria de transcripción integran y procesan señales hormonales para regular la transcripción de un modo fisiológico.

Existe una familia grande de proteínas receptoras nucleares

La superfamilia de receptor nuclear consta de un grupo diverso de factores de transcripción que se descubrió debido a una similitud de secuencia en sus dominios de unión a DNA (DBD). Esta familia, ahora con más de 50 miembros, comprende los receptores de hormona nuclear ya comentados, varios otros receptores cuyos ligandos se descubrieron tras la identificación de los receptores, y muchos receptores putativos o huérfanos para los cuales queda por descubrir un ligando.



Receptores:	Clase esteroide	RXR formando pareja	Huérfanos
Unión:	Homodímeros	Heterodímeros	Homodímeros
Ligando:	Esteroides	9-Cis RA + (x)	?
Elemento de DNA:	Repetición invertida	Repeticiones directas	Repeticiones directas

FIGURA 42–12 **La superfamilia de receptor nuclear.** Los miembros de esta familia se dividen en seis dominios estructurales (A a F). El dominio A/B también se denomina AF-1, o la región moduladora, porque está involucrado en la activación de la transcripción. El dominio C consta del dominio de unión a DNA (DBD). La región D contiene la bisagra, que proporciona flexibilidad entre el DBD y el dominio de unión a ligando (LBD, región E). La parte C terminal de la región E contiene AF-2, otro dominio importante para la transactivación. La región F está poco definida. Las funciones de estos dominios se comentan con mayor detalle en el texto. Los receptores que tienen ligandos conocidos, como las hormonas esteroides, se unen como homodímeros sobre medios sitios de repetición invertidos. Otros receptores forman heterodímeros con la pareja RXR sobre elementos repetidos directos. Puede haber espaciadores nucleótido de una a cinco bases entre estas repeticiones directas (DR1 a 5). Otra clase de receptores para la cual no se han determinado ligandos (receptores huérfanos) definitivamente se unen como homodímeros a repeticiones directas, y en ocasiones como monómeros a un medio sitio único.

Estos receptores nucleares tienen varias características estructurales en común (**figura 42-12**). Todos tienen un dominio de unión a DNA (DBD) ubicado centralmente que permite al receptor unirse con alta afinidad a un elemento de respuesta. El DBD contiene dos motivos de unión dedo de cinc (figura 38-14) que dirigen la unión bien sea como homodímeros, como heterodímeros (por lo general con una pareja receptor X retinoide [RXR]) o como monómeros. El elemento de respuesta blanco consta de una o dos secuencias de consenso de medio sitio de DNA dispuestas como una repetición invertida o directa. El espacio entre esta última ayuda a determinar la especificidad de unión. Así, en general, una repetición directa con 3, 4 o 5 regiones espaciadoras de nucleótido especifica la unión de receptores de vitamina D, hormona tiroidea, y ácido retinoico, respectivamente, al mismo elemento de respuesta de consenso (cuadro 42-1). Un **dominio de unión a ligando** (**LBD**) multifuncional está localizado en la mitad carboxilo terminal del receptor. El LBD se une a hormonas o metabolitos con selectividad y, de este modo, especifica una respuesta biológica particular. Asimismo, el LBD contiene dominios que median la unión de proteínas de choque por calor, dimerización, localización nuclear y transactivación. Esta última función es facilitada por la función de activación de transcripción carboxilo terminal (**dominio AF-2**), que forma una superficie requerida para la interacción con coactivadores. Una **región bisagra** muy variable separa el DBD del LBD. Esta región proporciona flexibilidad al receptor, de manera que puede adoptar diferentes conformaciones de unión a DNA. Por último, hay una región amino terminal muy variable la cual contiene otro dominio de transactivación llamado **AF-1**. El dominio AF-1 probablemente proporciona funciones fisiológicas separadas por medio de la unión de diferentes proteínas correguladoras. Esta región del receptor, mediante el uso de promotores diferentes, sitios de empalme alternativos, y múltiples sitios de inicio de traducción, proporciona isoformas de receptor que comparten identidad de DBD y LBD pero ejercen diferentes respuestas fisiológicas debido a la asociación de diversos correguladores con este dominio AF-1 amino terminal variable.

Es posible clasificar de diversos modos este gran número de receptores hacia grupos. Aquí se comentan de acuerdo con la manera en que se unen a sus elementos de DNA respectivos (figura 42-12). Los receptores de hormona clásicos para glucocorticoides (GR), mineralocorticoides (MR), estrógenos (ER), andrógenos (AR) y progestinas (PR), se unen como homodímeros a secuencias repetidas invertidas. Otros receptores de hormona, como de receptor tiroideo (TR), ácido retinoico (RAR) y vitamina D (VDR), y receptores que se unen a diversos ligandos de metabolito como PPAR α, β y γ, FXR, LXR, PXR/SXR, y CAR, se unen como heterodímeros, con receptor X retinoide (RXR) como una pareja, para dirigir secuencias repetidas (figura 42-12 y **cuadro 42-5**). Otro grupo de receptores huérfanos que hasta ahora no tienen ligando conocido se unen como homodímeros o monómeros a secuencias repetidas directas.

El descubrimiento de la superfamilia de receptor nuclear ha llevado a una comprensión importante de cómo diversos metabolitos y xenobióticos regulan la expresión de gen y, de este modo, el metabolismo, la destoxificación y la eliminación de productos corporales normales, y agentes exógenos, como productos farmacéuticos (cuadro 42-5). No sorprende que esta área sea un fértil campo para la investigación de nuevas intervenciones terapéuticas.

Gran número de correguladores de receptor nuclear también participa en la regulación de la transcripción

El remodelado de cromatina (modificaciones de histona, metilación de DNA), la modificación de factor de transcripción por diversas actividades enzimáticas, y la comunicación entre los re-

CUADRO 42–5 Receptores nucleares con ligandos especiales[1]

Receptor		Pareja	Ligando	Proceso afectado
Peroxisoma	$PPAR_{\alpha}$	RXR (DR1)	Ácidos grasos	Proliferación de peroxisoma
Activado por proliferador	$PPAR_{\beta}$ $PPAR_{\gamma}$		Ácidos grasos Ácidos grasos Eicosanoides, tiazolidinedionas	Metabolismo de lípidos y carbohidratos
Farnesoide X	FXR	RXR (DR4)	Farnesol, ácidos biliares	Metabolismo de ácido biliar
Hígado X	LXR	RXR (DR4)	Oxiesteroles	Metabolismo de colesterol
Xenobiótico X	CAR	RXR (DR5)	Androstanos Fenobarbital Xenobióticos	Protección contra ciertos fármacos, metabolitos tóxicos y xenobióticos
	PXR	RXR (DR3)	Pregnanos Xenobióticos	

[1] Muchos miembros de la superfamilia de receptor nuclear se descubrieron mediante clonación, y después se identificaron los ligandos correspondientes. Estos ligandos no son hormonas en el sentido clásico, pero tienen una función similar por cuanto activan a miembros específicos de la superfamilia de receptor nuclear. Los receptores aquí descritos forman heterodímeros con RXR y tienen secuencias de nucleótido variables que separan los elementos de unión de repetición directa (DR1 a 5). Estos receptores regulan diversos genes que codifican para citocromos p450 (CYP), proteínas de unión citosólicas, y transportadores de casete de unión a ATP (ABC) para influir sobre el metabolismo y proteger a las células contra medicamentos y agentes nocivos.

ceptores nucleares y el aparato de transcripción basal, se logran por medio de interacciones entre una proteína y otra con una o más de una clase de moléculas correguladoras. El número de estas moléculas correguladoras ahora excede 100, sin contar variaciones de especie y variantes de empalme. La primera de éstas en describirse fue la **proteína de unión a CREB** (**CBP**). La CBP, mediante un dominio amino terminal, se une a la serina 137 fosforilada de CREB, y media la transactivación en respuesta a cAMP. Así, se describe como un coactivador. La CBP y su familiar cercano, p300, interactúan de manera directa o indirecta con diversas moléculas emisoras de señal, incluso proteína activadora-1 (AP-1), transductores de señal y activadores de transcripción (STAT), receptores nucleares y CREB (**figura 42-13**). La **CBP/p300** también se une a la familia de coactivadores p160 descrita más adelante, y a varias otras proteínas, incluso el factor de transcripción viral Ela, la proteína cinasa $p90^{rsk}$ y la RNA helicasa A. Tiene importancia notar, como se mencionó, que **CBP/p300 tiene actividad intrínseca de histona acetiltransferasa** (**HAT**). En la figura 42-11 se ilustran algunas de las muchas acciones de CBP/p300, que parecen depender de actividades enzimáticas intrínsecas y su capacidad para servir como un andamio para la unión de otras proteínas. Otros correguladores desempeñan funciones similares.

Se han descrito varias otras familias de moléculas coactivadoras. Los miembros de la **familia de coactivadores p160**, todos de aproximadamente 160 kDa, incluyen: 1) SRC-1 y NCoA-1; 2) GRIP1, TIF2, y NCoA-2, y 3) p/CIP, ACTR, AIB1, RAC3 y TRAM-1 (**cuadro 42–6**). Los diferentes nombres para miembros dentro de una subfamilia suelen representar variaciones de especie o variantes de empalme menores. Hay alrededor de 35% de identidad de aminoácidos entre miembros de las diferentes subfamilias. Los coactivadores p160 comparten varias proteínas. 1) Se unen a receptores nucleares de un modo dependiente de agonista y de dominio de transactivación AF2; 2) tienen un motivo de hélice-asa-hélice básica (bHLH) amino terminal conservado (cap. 38); 3) tienen un dominio de transactivación carboxilo terminal débil y un dominio de transactivación amino terminal más fuerte en una región que se requiere

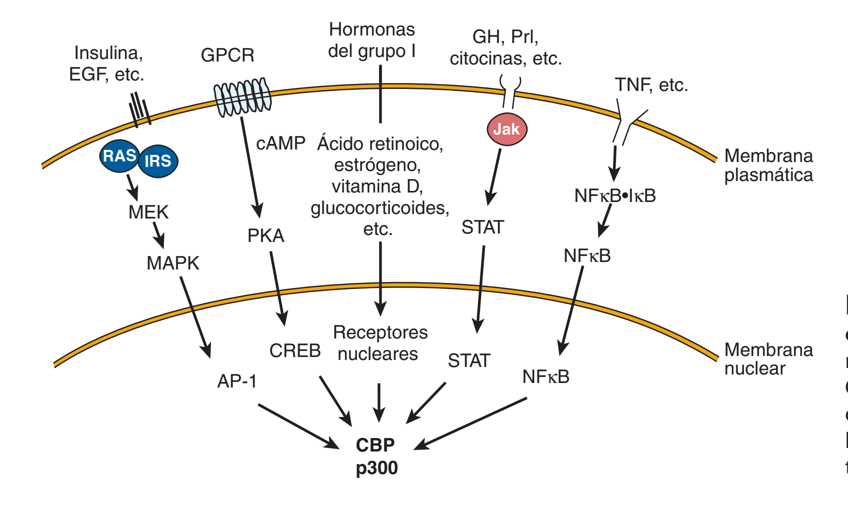


FIGURA 42–13 Varias vías de transducción de señal convergen en CBP/p300. Muchos ligandos que se asocian con receptores de membrana o nucleares finalmente convergen en CBP/p300. Se emplean varias vías de transducción de señal diferentes. (EGF, factor de crecimiento epidérmico; GH, hormona de crecimiento; Prl, prolactina; TNF, factor de necrosis tumoral; otras abreviaturas se desatan en el texto.)

CUADRO 42–6 Algunas proteínas correguladoras de mamífero

I. Familia de coactivadores de 300 kDa		
	A. CBP	Proteína de unión a CREB
	B. p300	Proteína de 300 kDa
II. Familia de coactivadores de 160 kDa		
	A. SRC-1 NCoA-1	Coactivador de receptor de esteroide 1 Coactivador de receptor nuclear 1
	B. TIF2 GRIP1 NCoA-2	Factor intermediario transcripcional 2 Proteína de interacción con receptor de glucocorticoide Coactivador de receptor nuclear 2
	C. p/CIP ACTR AIB RAC3 TRAM-1	Proteína vinculada con cointegrador p300/CBP 1 Activador de los receptores de hormona tiroidea y ácido retinoico Amplificado en cáncer mamario Coactivador asociado con receptor 3 Molécula activadora de TR 1
III. Correpresores		
	A. NCoR	Correpresor de receptor nuclear
	B. SMRT	Mediador silenciador para RXR y TR
IV. Subunidades mediadoras		
	A. TRAP	Proteínas asociadas con receptor de hormona tiroidea
	B. DRIP	Proteínas que interactúan con el receptor de vitamina D
	C. ARC	Cofactor reclutado por activador

para la interacción de CBP/p160; 4) contienen al menos tres de los **motivos LXXLL** requeridos para la interacción proteína-proteína con otros coactivadores, y 5) a menudo tienen actividad de HAT. La función de HAT es en particular interesante, dado que las mutaciones del dominio HAT inutilizan muchos de estos factores de transcripción. La idea que se sostiene actualmente sostiene que estas actividades de HAT acetilan histonas, lo cual facilita el remodelado de cromatina hacia un ambiente eficiente en cuanto a transcripción. De este modo, la acetilación/desacetilación de histona desempeña una función crucial en la expresión génica. Por último, es importante notar que se han reportado otros sustratos proteínicos para acetilación mediada por HAT, como activadores de transcripción de unión a DNA y otros correguladores. Esos eventos de PTM no histona probablemente también tienen importancia en la respuesta reguladora general.

Un pequeño número de proteínas, incluso NCoR y SMRT, comprenden la **familia correpresora**. Su función, al menos en parte, se describe en la figura 42-2. Otra familia incluye las TRAP, DRIP y ARC (cuadro 42-6). Estas proteínas representan subunidades del Mediador (cap. 36) y varían de tamaño desde 80 hasta 240 kDa, y se cree que enlazan el complejo de receptor-coactivador nuclear a RNA polimerasa II y los otros componentes del aparato de transcripción basal.

La función exacta de estos coactivadores se encuentra en investigación intensiva. Muchas de estas proteínas tienen actividades enzimáticas intrínsecas. Esto es en especial interesante en vista del hecho de que se ha propuesto que la acetilación, fosforilación, metilación, sumoilación y ubiquitinación —así como proteólisis y translocación celular— alteran la actividad de algunos de estos correguladores y sus blancos.

Parece ser que ciertas combinaciones de correguladores —y, de este modo, diferentes combinaciones de activadores e inhibidores— se encargan de acciones inducidas por ligando específicas por medio de diversos receptores. Además, estas interacciones sobre un promotor dado son dinámicas. En algunos casos, se han observado complejos que constan de hasta 45 factores de transcripción en un gen único.

RESUMEN

- Las hormonas, citocinas, interleucinas y factores de crecimiento usan diversos mecanismos de emisión de señales para facilitar respuestas adaptativas celulares.
- El complejo de ligando-receptor sirve como la señal inicial para miembros de la familia de receptor nuclear.
- Las hormonas clase II, péptido/proteína y catecolamina, que se unen a receptores de superficie celular, generan diversas señales intracelulares, las cuales comprenden cAMP, cGMP, Ca^{2+}, fosfatidilinositidas y cascadas de proteína cinasa.
- Muchas respuestas a hormonas se logran mediante alteraciones del índice de transcripción de genes específicos.
- La superfamilia de proteínas de receptor nuclear desempeña una función fundamental en la regulación de la transcripción de gen.
- Los receptores nucleares, que pueden tener hormonas, metabolitos o fármacos como ligandos, se unen a elementos de DNA específicos como homodímeros o como heterodímeros con RXR. Algunos —receptores huérfanos— no tienen un ligando conocido pero se unen al DNA e influyen sobre la transcripción.
- Otra familia grande de proteínas correguladoras remodela la cromatina, modifica otros factores de transcripción, y forma puentes entre los receptores nucleares y el aparato de transcripción basal.

REFERENCIAS

Arvanitakis L, Geras-Raaka E, Gershengorn MC: Constitutively signaling G-protein-coupled receptors and human disease. Trends Endocrinol Metab 1998;9:27

Aylon Y, Oren M: Living with p53, Dying of p53. Cell 2007;130:597.

Beene DL, Scott JD: A-kinase anchoring proteins take shape. Current Opinion in Cell Biol 2007;19:192.

Brummer T, Schmitz-Perffer C, Daly RJ: Docking proteins. FEBS Journal 2010; 277:4356–4369.

Cheung E, Kraus WL: Genomic Analyses of Hormone Signaling and Gene Regulation. Annu Rev Physiol 2010;72:191–218.

Darnell JE Jr, Kerr IM, Stark GR: Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. Science 1994;264:1415.

Fantl WJ, Johnson DE, Williams LT: Signalling by receptor tyrosine kinases. Annu Rev Biochem 1993;62:453.

Hanoune J, Defer N: Regulation and role of adenylyl cyclase isoforms. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2001;41:145.

Jaken S: Protein kinase C isozymes and substrates. Curr Opin Cell Biol 1996;8:168.

Lee C-H, Olson P, Evans RM: Mini-review: Lipid metabolism, metabolic diseases and peroxisome proliferators-activated receptor. Endocrinology 2003;144:2201.

Métivier R, Gallais R, Tiffoche C, et al: Cyclical DNA methylation of a transcriptionally active promter. Nature 2008;452:45.
Métivier R, Reid G, Gannon F: Transcription in four dimensions: nuclear receptor-directed initiation of gene expression. EMBO Journal 2006;7:161.
Montminy M: Transcriptional regulation by cyclic AMP. Annu Rev Biochem 1997;66:807
Morris AJ, Malbon CC: Physiological regulation of G protein-linked signaling. Physiol Rev 1999;79:1373.
O'Malley B: Coregulators: from whence came these "master genes." Mol Endocrinology 2007;21:1009.
Rosenfeld MG, Lunyak VV, Glass CK: Sensors and signals: a coactivator/corepressor/epigenetic code for integrating signal-dependent programs of transcriptional response. Genes and Dev 2006;20:1405.
Sonoda J, Pei L, Evans RM: Nuclear receptors: decoding metabolic disease. Fed of European Biochem Soc 2007; 582:2.
Tang X, Tang G, Ozcan S: Role of microRNAs in diabetes. Biochem Biophys Acta 2008;1779:697.
Walton KM, Dixon JE: Protein tyrosine phosphatases. Annu Rev Biochem 1993;62:101.

Preguntas de examen

Sección V

1. Respecto a los lípidos de membrana, seleccione la respuesta FALSA.
   A. El principal fosfolípido por masa en membranas de ser humano por lo general es fosfatidilcolina.
   B. Los glucolípidos están ubicados en las capas interna y externa de la membrana plasmática.
   C. El ácido fosfatídico es un precursor de la fosfatidilserina, no así de la esfingomielina.
   D. La fosfatidilcolina y la fosfatidiletanolamina están ubicadas principalmente en la capa externa de la membrana plasmática.
   E. El movimiento transversal ("flip-flop") de fosfolípidos en membranas es muy lento.

2. Respecto a las proteínas de membrana, seleccione la respuesta FALSA.
   A. Debido a consideraciones estéricas, las hélices alfa no pueden existir en membranas.
   B. Un gráfico de hidropatía ayuda a estimar si un segmento de una proteína es predominantemente hidrofóbico o hidrofílico.
   C. Ciertas proteínas están ancladas a la capa externa de membranas plasmáticas por medio de estructuras glucofosfatidilinositol (GPI).
   D. La adenilil ciclasa es una enzima marcador para la membrana plasmática.
   E. La mielina tiene un contenido muy alto de lípido en comparación con proteína.

3. Respecto al transporte de membrana, seleccione la afirmación FALSA.
   A. El potasio tiene una densidad de carga más baja que el sodio, y tiende a moverse con mayor rapidez a través de membranas que el sodio.
   B. El flujo de iones a través de canales iónicos es un ejemplo de transporte pasivo.
   C. La difusión facilitada requiere un transportador de proteína.
   D. La inhibición de la Na^+ K^+-ATPasa inhibirá la captación de glucosa, dependiente de sodio, en células intestinales.
   E. La insulina, al reclutar transportadores de glucosa hacia la membrana plasmática, aumenta la captación de glucosa en células adiposas, no así en el músculo.

4. Respecto a la Na^+ K^+-ATPasa, seleccione la afirmación FALSA.
   A. Su acción mantiene la concentración intracelular alta de sodio en comparación con potasio.
   B. Puede usar hasta 30% del gasto de ATP total de una célula.
   C. Es inhibida por la digital, un fármaco que es útil en ciertas afecciones cardiacas.
   D. Está ubicada en la membrana plasmática de células.
   E. La fosforilación está involucrada en su mecanismo de acción, lo que lleva a su clasificación como un transportador activo impulsado por ATP tipo P.

5. ¿Qué moléculas permiten a las células responder a una molécula emisora de señales extracelular específica?
   A. Carbohidratos receptores específicos localizados a la superficie de la membrana plasmática interna.
   B. Bicapa lipídica de la membrana plasmática.
   C. Canales iónicos.
   D. Receptores que reconocen de manera específica esa molécula mensajera particular y se unen a ella.
   E. Membranas nucleares intactas.

6. Indique el término que se aplica en general a las moléculas mensajeras extracelulares que se unen a proteínas receptoras transmembrana:
   A. Inhibidor competitivo.
   B. Ligando.
   C. Curva de Scatchard.
   D. Sustrato.
   E. Llave.

7. En la emisión de señales autocrina
   A. Las moléculas mensajeras alcanzan sus células blanco por medio de paso por el torrente sanguíneo.
   B. Las moléculas mensajeras sólo viajan distancias cortas por el espacio extracelular hacia células que se encuentran en estrecha proximidad a la célula que está generando el mensaje.
   C. La célula que está produciendo el mensajero expresa receptores sobre su superficie que pueden responder a ese mensajero.
   D. Las moléculas mensajero por lo general se degradan rápidamente y, por ende, sólo pueden funcionar en distancias cortas.

8. Independientemente de cómo se inicia una señal, el evento de unión a ligando es propagado por medio de segundos mensajeros o reclutamiento de proteína. ¿Cuál es el resultado final de estos eventos de unión?
   A. Una proteína en la parte media de una vía de emisión de señales intracelular es activada.
   B. Una proteína en la parte superior de una vía de emisión de señales intracelular es activada.
   C. Una proteína en la parte superior de una vía de emisión de señales extracelular es activada.
   D. Una proteína en la parte superior de una vía de emisión de señales intracelular es desactivada.
   E. Una proteína en la parte inferior de una vía de emisión de señales intracelular es activada.

9. ¿Qué características de la superfamilia de receptores nucleares sugieren que estas proteínas han evolucionado a partir de un ancestro común?
   A. Todas se unen al mismo ligando con afinidad alta.
   B. Todas funcionan dentro del núcleo.
   C. Todas están sujetas a fosforilación reguladora.
   D. Todas contienen regiones de similitud/identidad alta de secuencia de aminoácidos.
   E. Todas se unen a DNA.

10. ¿Qué efecto tiene la degradación de complejos de receptor-ligando después de internalización sobre la capacidad de una célula para responder si vuelve a quedar expuesta de inmediato a la misma hormona?
   A. La respuesta celular es atenuada debido a un decremento del número de receptores celulares.

B. La respuesta celular es aumentada debido a competencia reducida de receptor-ligando.
C. La respuesta celular no cambia a estímulos subsiguientes.
D. La respuesta celular a hormona ahora es bimodal; aumentada durante un tiempo breve y después disminuida.

11. Típicamente, ¿cuál es la primera reacción después de que casi todos los receptores proteína-tirosina cinasas (RTK) se unen a su ligando?
A. Trimerización de receptor.
B. Degradación de receptor.
C. Desnaturalización de receptor.
D. Disociación de receptor.
E. Dimerización de receptor.

12. ¿Dónde se encuentra el dominio catalítico de los receptores proteína-tirosina cinasas?
A. Sobre la superficie extracelular del receptor, inmediatamente adyacente al dominio de unión a ligando.
B. Sobre una proteína independiente que se une con rapidez al receptor en el momento de unión a ligando.
C. Sobre el dominio citoplásmico del receptor.
D. Dentro de la porción del receptor que abarca transmembrana.

13. Las subunidades de las proteínas G heterotriméricas se llaman subunidades ___, ___ y ___.
A. α, β y χ.
B. α, β y δ.
C. α, γ y δ.
D. α, β y γ.
E. γ, δ y η.

14. De los receptores listados a continuación, ¿cuál puede conducir un flujo de iones a través de la membrana plasmática cuando está unido a su ligando cognado?
A. Receptor tirosina cinasas (RTK).
B. Receptores acoplados a proteína G (GPCR).
C. Complejo receptor-correceptor.
D. Receptores de hormona esteroide.
E. Canales sensibles a ligando.

15. ¿Cuál de los que siguen NO es un ligando natural que se une a receptores acoplados a proteína G?
A. Hormonas.
B. Hormonas esteroides.
C. Quimioatrayentes.
D. Derivados del opio.
E. Neurotransmisores.

16. Coloque en el orden CORRECTO los eventos de emisión de señales listados a continuación.
1. La proteína G se une a receptor activado, lo que forma un complejo de receptor-proteína G.
2. Liberación de GDP por la proteína G.
3. Cambio de conformación de las asas citoplásmicas del receptor.
4. Unión de GTP por la proteína G.
5. Aumento de la afinidad del receptor por una proteína G sobre la superficie citoplásmica de la membrana.
6. Unión de una hormona o neurotransmisor a un receptor acoplado a proteína G.
7. Cambio conformacional de la subunidad α de la proteína G.
A. 6 – 3 – 5 – 1 – 2 – 4 – 7
B. 6 – 5 – 4 – 1 – 7 – 2 – 3
C. 6 – 3 – 5 – 1 – 7 – 2 – 4
D. 6 – 7 – 3 – 5 – 1 – 2 – 4
E. 6 – 3 – 5 – 1 – 7 – 2 – 4

17. ¿Cuáles proteínas G heterotriméricas acoplan receptores a la adenilil ciclasa por medio de la activación de subunidades G_α unidas a GTP?
A. Familia G_r.
B. Familia G_q.
C. Familia G_i.
D. Familia $G_{12/13}$.
E. Familia G_s.

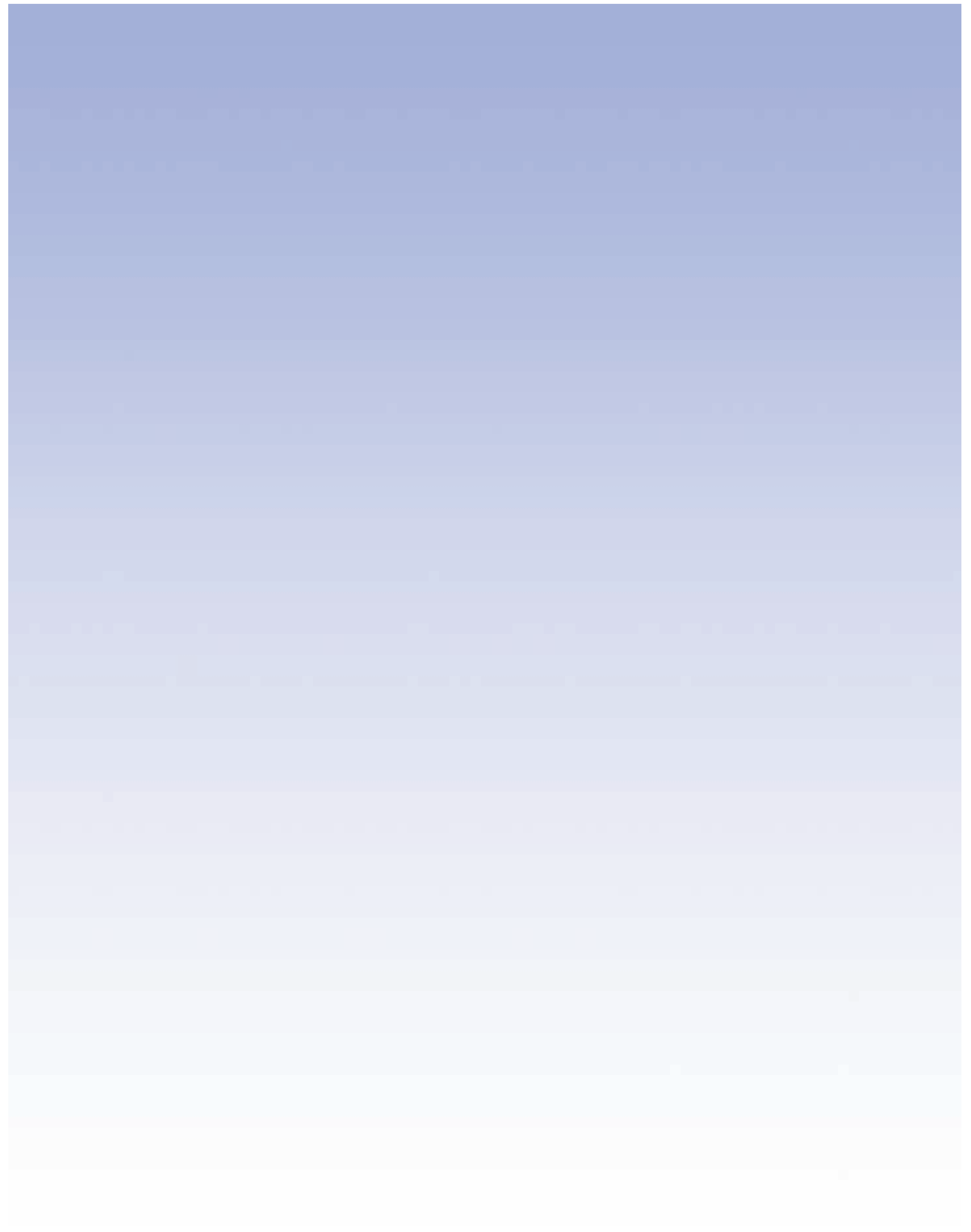
18. ¿Qué debe suceder para evitar sobrestimulación por una hormona?
A. Las hormonas deben ser degradadas.
B. Las proteínas G deben ser recicladas y después degradadas.
C. Los receptores deben ser bloqueados para que no sigan activando proteínas G.
D. Los receptores deben dimerizarse.

19. ¿Cuál de las hormonas que siguen, llamada hormona de "lucha o huida", es secretada por la médula suprarrenal?
A. Epinefrina.
B. Oxitocina.
C. Insulina.
D. Glucagón.
E. Somatostatina.

20. ¿Cuál hormona es secretada por las células α en el páncreas en respuesta a concentración baja de glucosa en sangre?
A. Insulina.
B. Glucagón.
C. Estradiol.
D. Epinefrina.
E. Somatostatina.

21. En las células hepáticas, ¿la expresión de genes que codifican para enzimas gluconeogénicas como la fosfoenolpiruvato carboxicinasa es inducida en respuesta a cuál de las moléculas que siguen?
A. cGMP.
B. Insulina.
C. ATP.
D. cAMP.
E. Colesterol.

22. ¿Qué sucede a la proteína cinasa A (PKA) después de la unión de cAMP?
A. Las subunidades reguladoras de PKA se disocian, lo que activa las subunidades catalíticas.
B. Las subunidades catalíticas de PKA a continuación se unen a dos subunidades reguladoras, lo que activa las subunidades catalíticas.
C. Las subunidades reguladoras inhibidoras se disocian de las subunidades catalíticas, lo que desactiva por completo la enzima.
D. Las subunidades reguladoras estimuladoras se disocian de las subunidades catalíticas, lo que inhibe la enzima.
E. La fosfodiesterasa se une a las subunidades catalíticas, lo que da lugar a la desactivación de enzima.



SECCIÓN VI

Temas especiales

CAPÍTULO



Nutrición, digestión y absorción

David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir la digestión y absorción de carbohidratos, lípidos, proteínas, vitaminas y minerales.
- Explicar cómo los requerimientos de energía se pueden medir y estimar, y cómo la medición del cociente respiratorio permite estimar la mezcla de combustibles metabólicos que se están oxidando.
- Describir las consecuencias de la nutrición insuficiente: marasmo, caquexia y kwashiorkor.
- Explicar cómo se determinan los requerimientos de proteína y por qué se requiere una cantidad mayor de algunas proteínas que de otras para mantener el balance de nitrógeno.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Además de agua, la dieta debe proporcionar combustibles metabólicos (principalmente carbohidratos y lípidos), proteína (para el crecimiento, y para el recambio de proteínas hísticas, así como una fuente de combustible metabólico), fibra (para formación de volumen en la luz del intestino), minerales (que contienen elementos con funciones metabólicas específicas), y vitaminas y ácidos grasos esenciales (compuestos orgánicos necesarios en cantidades menores para otras funciones metabólicas y fisiológicas). Antes de su absorción y utilización, los polisacáridos, triacilgliceroles y proteínas que constituyen la mayor parte de la dieta, se deben hidrolizar hacia los monosacáridos, ácidos grasos y aminoácidos que los constituyen, respectivamente. Los minerales y las vitaminas se deben liberar de la matriz de alimento compleja antes de que se puedan absorber y utilizar.

La **nutrición insuficiente** es un problema a nivel mundial, lo que lleva a alteración de crecimiento, sistema inmunitario defectuoso, y capacidad reducida para trabajar. En contraste, en países desarrollados hay consumo excesivo de alimento (en especial de grasa), lo que conduce a obesidad, el desarrollo de diabetes, enfermedad cardiovascular y algunas formas de cáncer. Las deficiencias de vitamina A, hierro y yodo plantean importantes preocupaciones respecto a la salud en muchos países, y las deficiencias de otras vitaminas y minerales son una causa importante de mala salud. En países desarrollados, la deficiencia de nutrientes es rara, aunque hay sectores vulnerables de la población en riesgo. La ingestión de minerales y vitaminas que es adecuada para prevenir deficiencia puede ser inadecuada para promover la salud óptima y la longevidad.

La secreción excesiva de ácido gástrico, relacionada con infección por *Helicobacter pylori*, llega a producir **úlceras** gástricas y duodenales; pequeños cambios de la composición de la bilis pueden originar cristalización de colesterol como **cálculos biliares**; la insuficiencia de la secreción pancreática exocrina (como en la **fibrosis quística**) lleva a nutrición insuficiente y esteatorrea. La **intolerancia a la lactosa** se debe a deficiencia de lactasa, lo que ocasiona diarrea y molestias intestinales cuando se consume la lactosa. La absorción de péptidos intactos que estimulan respuestas de anticuerpos causa **reacciones alérgicas**; la **enfermedad celiaca** es una reacción alérgica al gluten del trigo.

DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos se digieren mediante hidrólisis para liberar oligosacáridos, y después monosacáridos y disacáridos. El aumento de la glucosa en la sangre después de una dosis de prueba de carbohidrato en comparación con el que se observa después de una cantidad equivalente de glucosa (como glucosa o a partir de un alimento feculento de referencia) se conoce como **índice glucémico**. La glucosa y la galactosa tienen un índice de 1 (o 100%), al igual que la lactosa, maltosa, isomaltosa y trealosa, que dan lugar a estos monosacáridos en el momento de la hidrólisis. La fructosa y los alcoholes azúcar se absorben con menos rapidez y tienen un índice glucémico más bajo, al igual que la sacarosa. El índice glucémico del almidón varía desde cerca de 1 (o 100%) hasta alrededor de 0, como resultado de índices variables de hidrólisis, y el de los polisacáridos no feculentos es de 0. Se considera que los alimentos que tienen un índice glucémico bajo son más beneficiosos porque causan menos fluctuación de la secreción de insulina. Los polisacáridos feculentos y no feculentos resistentes proporcionan sustratos para la fermentación bacteriana en el intestino grueso, y el butirato y otros ácidos grasos de cadena corta resultantes proporcionan una importante fuente de combustible para los enterocitos intestinales. Hay algunas evidencias de que el butirato también tiene actividad antiproliferativa y, así, proporciona protección contra el cáncer colorrectal.

Las amilasas catalizan la hidrólisis del almidón

La hidrólisis del almidón es catalizada por amilasas salivales y pancreáticas, que catalizan la hidrólisis al azar de enlaces glucósido $\alpha(1\rightarrow4)$, lo que da dextrinas, y después una mezcla de glucosa, maltosa y maltotriosa, y dextrinas ramificadas pequeñas (a partir de puntos de ramificación en la amilopectina).

Los disacáridos son enzimas del borde en cepillo

Los disacáridos, la maltasa, la sacarasa-isomaltasa (una enzima bifuncional que cataliza la hidrólisis de sacarosa e isomaltosa), lactasa y trehalasa están localizadas en el borde en cepillo de las células de la mucosa intestinal, donde se absorben los monosacáridos resultantes y los que surgen a partir de la dieta. Rara vez ocurre deficiencia congénita de lactasa en lactantes, lo que lleva a intolerancia a la lactosa y falta de crecimiento y desarrollo cuando se les alimenta con leche materna o leche artificial para lactantes normales. Ocurre deficiencia congénita de sacarasa-isomaltasa entre los inuit o esquimales, lo que lleva a intolerancia a la sacarosa, con diarrea persistente y falta de crecimiento y desarrollo cuando la dieta contiene sacarosa.

En casi todos los mamíferos, y en la mayoría de los seres humanos, la actividad de la lactasa empieza a disminuir después del destete, y se pierde casi por completo hacia el final de la adolescencia, lo que lleva a **intolerancia a la lactosa**. La lactosa permanece en la luz del intestino, donde es un sustrato para la fermentación bacteriana hacia lactato, lo que da por resultado molestias en el abdomen y diarrea después del consumo de cantidades relativamente grandes. En dos grupos de población, las personas originarias del norte de Europa, y tribus nómadas del África subsahariana y Arabia, la lactasa persiste después del destete y hasta la vida adulta. Los mamíferos marinos secretan una leche con alto contenido de grasa que no contiene carbohidrato, y sus crías carecen de lactasa.

Hay dos mecanismos separados para la absorción de monosacáridos en el intestino delgado

La glucosa y la galactosa se absorben mediante un proceso dependiente de sodio. Se transportan mediante la misma proteína de transporte (SGLT 1), y compiten entre sí por la absorción intestinal (**figura 43-1**). Otros monosacáridos se absorben mediante difusión mediada por acarreador. Dado que no se transportan de manera activa, la fructosa y los alcoholes azúcar sólo se absorben a favor de su gradiente de concentración, y después de una ingestión moderadamente alta, cierta cantidad permanece en la luz del intestino, y actúa como un sustrato para la fermentación bacteriana. La ingestión de grandes cantidades de fructosa y alcoholes de azúcar puede llevar a diarrea osmótica.

DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE LÍPIDOS

Los principales lípidos en la dieta son triacilgliceroles y, en menor grado, fosfolípidos. Se trata de moléculas hidrofóbicas, las

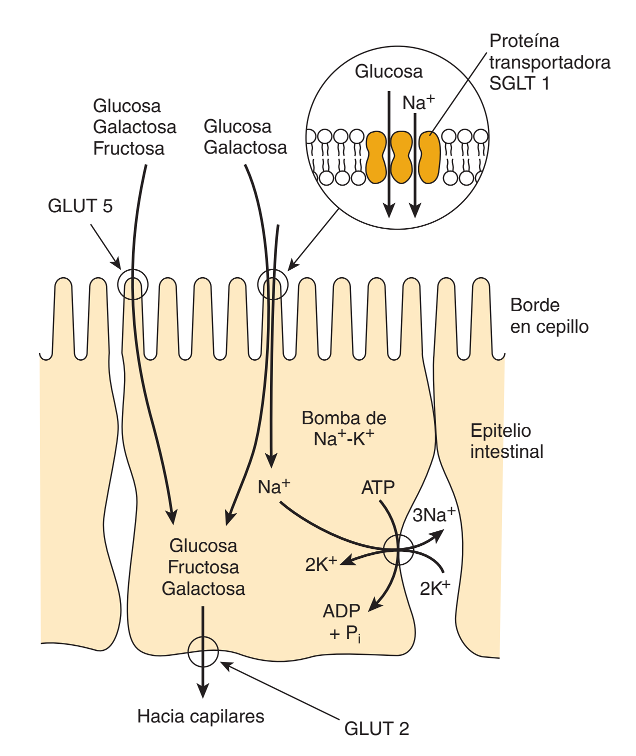


FIGURA 43–1 Transporte de glucosa, fructosa y galactosa a través del epitelio intestinal. El transportador SGLT 1 está acoplado a la bomba de Na^+-K^+, lo que permite que la glucosa y la galactosa se transporten contra sus gradientes de concentración. El transportador facilitador independiente de Na^+ GLUT 5 permite que la fructosa, al igual que la glucosa y la galactosa, se transporten a favor de sus gradientes de concentración. Todos los azúcares salen de la célula por medio del transportador facilitador GLUT 2.

cuales se tienen que hidrolizar y emulsificar hacia gotitas muy pequeñas (micelas, 4 a 6 nm de diámetro) antes de que sea posible absorberlas. Las vitaminas liposolubles, A, D, E y K, y varios otros lípidos (entre ellos colesterol) se absorben disueltos en las micelas de lípido. La absorción de las vitaminas liposolubles está alterada cuando la dieta tiene muy poca grasa.

La hidrólisis de triacilgliceroles es iniciada por las lipasas lingual y gástrica, que atacan el enlace *sn*-3 éster que forma 1,2-diacilgliceroles y ácidos grasos libres, los cuales actúan como agentes emulsificadores. La lipasa pancreática es secretada hacia el intestino delgado, y para tener actividad requiere otra proteína pancreática, la colipasa. Es específica para los enlaces éster primarios —es decir, posiciones 1 y 3 en triacilgliceroles—, lo que da lugar a 2-monoacilgliceroles y ácidos grasos libres como los principales productos terminales de la digestión de triacilglicerol luminal. La esterasa pancreática en la luz intestinal hidroliza monoacilgliceroles, pero éstos son sustratos inadecuados, y sólo ~25% del triacilglicerol ingerido es hidrolizado por completo hacia glicerol y ácidos grasos antes de la absorción (**figura 43-2**). Las sales biliares, formadas en el hígado y secretadas en la bilis, permiten la emulsificación de los productos de la digestión de lípido hacia micelas junto con los fosfolípidos de la dieta y colesterol secretado en la bilis (alrededor de 2 g/día), así como colesterol de la dieta (aproximadamente 0.5 g/día). Dado que las micelas son solubles, permiten que los productos de la digestión, incluso las vitaminas liposolubles, sean transportados a través del ambiente acuoso de la luz intestinal para que queden en contacto estrecho con el borde en cepillo de las células de la mucosa, lo que permite la captación hacia el epitelio. Las sales biliares permanecen en la luz intestinal, donde son absorbidas en su mayor parte desde el íleon hacia la **circulación enterohepática** (cap. 26). Dentro de la luz del intestino, los 1-monoacilgliceroles se hidrolizan hacia ácidos grasos y glicerol, y los 2-monoacilgliceroles se reacilan hacia triacilgliceroles por medio de la **vía del monoacilglicerol**. El glicerol liberado en la luz intestinal es absorbido hacia la vena porta; el glicerol liberado dentro del epitelio se reutiliza para la síntesis de triacilglicerol por medio de la vía del ácido fosfatídico normal (cap. 24). Los ácidos grasos de cadena larga se esterifican para dar triacilglicerol en las células de la mucosa, y junto con los otros productos de la digestión de lípido, se secretan como quilomicrones hacia los linfáticos, y entran en el torrente sanguíneo por medio del conducto torácico (cap. 25). Los ácidos grasos de cadena corta y media se absorben principalmente hacia la vena porta hepática como ácidos grasos libres.

El colesterol es absorbido disuelto en micelas de lípido y se esterifica principalmente en la mucosa intestinal antes de ser incorporado hacia quilomicrones. Los esteroles y estanoles de vegetales (en los cuales el anillo B está saturado) compiten con el colesterol por esterificación, pero son sustratos inadecuados, de modo que hay una cantidad aumentada de colesterol no esterificado en las células de la mucosa. El colesterol no esterificado y otros esteroles son transportados de manera activa hacia afuera de las células de la mucosa, hacia la luz intestinal. Esto significa que los esteroles y estanoles de vegetales inhiben con eficacia la absorción no sólo del colesterol de la dieta, sino también de la cantidad mayor que se secreta en la bilis, de modo que disminuyen el contenido de colesterol corporal total y, por ende, la concentración plasmática de colesterol.

DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE PROTEÍNAS

Las proteínas naturales son resistentes a la digestión porque pocos enlaces peptídicos están accesibles a las enzimas proteolíticas, sin desnaturalización previa de las proteínas de la dieta (mediante calor en la cocción y por medio de la acción del ácido gástrico).

Varios grupos de enzimas catalizan la digestión de proteínas

Hay dos clases principales de enzimas digestivas proteolíticas (**proteasas**), con diferentes especificidades para los aminoácidos que forman el enlace peptídico que se va a hidrolizar. Las **endopeptidasas** hidrolizan enlaces peptídicos entre aminoácidos específicos en toda la molécula; son las primeras enzimas en actuar y dan un número mayor de fragmentos de menor tamaño. La pepsina en el jugo gástrico cataliza la hidrólisis de enlaces peptídicos adyacentes a aminoácidos con cadenas laterales abultadas (aromáticos y de cadena ramificada, y a metionina). El páncreas secreta tripsina, quimotripsina y elastasa hacia el intestino delgado. La tripsina cataliza la hidrólisis de ésteres lisina y arginina; la quimotripsina, la de ésteres de aminoácidos aromáticos, y la elastasa, la de ésteres de aminoácidos alifáticos neutros pequeños. Las **exopeptidasas** catalizan la hidrólisis de enlaces peptídicos, uno a la vez, desde los extremos de péptidos. Las **carboxipeptidasas**, secretadas en el jugo pancreático, liberan aminoácidos desde el carboxilo terminal libre; las **aminopeptidasas**, secretadas por las células de la mucosa intestinal, liberan aminoácidos desde el amino terminal. Las **dipeptidasas** y **tripeptidasas** en el borde en cepillo de las células de la mucosa intestinal catalizan la hidrólisis de dipéptidos y tripéptidos, que no son sustratos para aminopeptidasas ni carboxipeptidasas.

Las proteasas se secretan como **zimógenos** inactivos; el sitio activo de la enzima está enmascarado por una pequeña región de la cadena peptídica que se elimina mediante hidrólisis de un enlace peptídico específico. El pepsinógeno se activa hacia pepsina por el ácido gástrico y por pepsina activada. En el intestino delgado, el tripsinógeno, el precursor de la tripsina, se activa mediante la enteropeptidasa, que es secretada por las células epiteliales del duodeno; la tripsina a continuación puede activar al quimotripsinógeno hacia quimotripsina, la proelastasa hacia elastasa, la procarboxipeptidasa hacia carboxipeptidasa, y la proaminopeptidasa hacia aminopeptidasa.

Los aminoácidos libres y los péptidos pequeños se absorben mediante mecanismos diferentes

El producto terminal de la acción de las endopeptidasas y las exopeptidasas es una mezcla de aminoácidos libres, dipéptidos y tripéptidos, y oligopéptidos, todos los cuales se absorben. Los aminoácidos libres se absorben a través de la mucosa intestinal por medio de transporte activo dependiente de sodio. Hay varios transportadores de aminoácido diferentes, con especificidad para la naturaleza de la cadena lateral del aminoácido (grande o pequeña, neutra, ácida o básica). Los diversos ami-

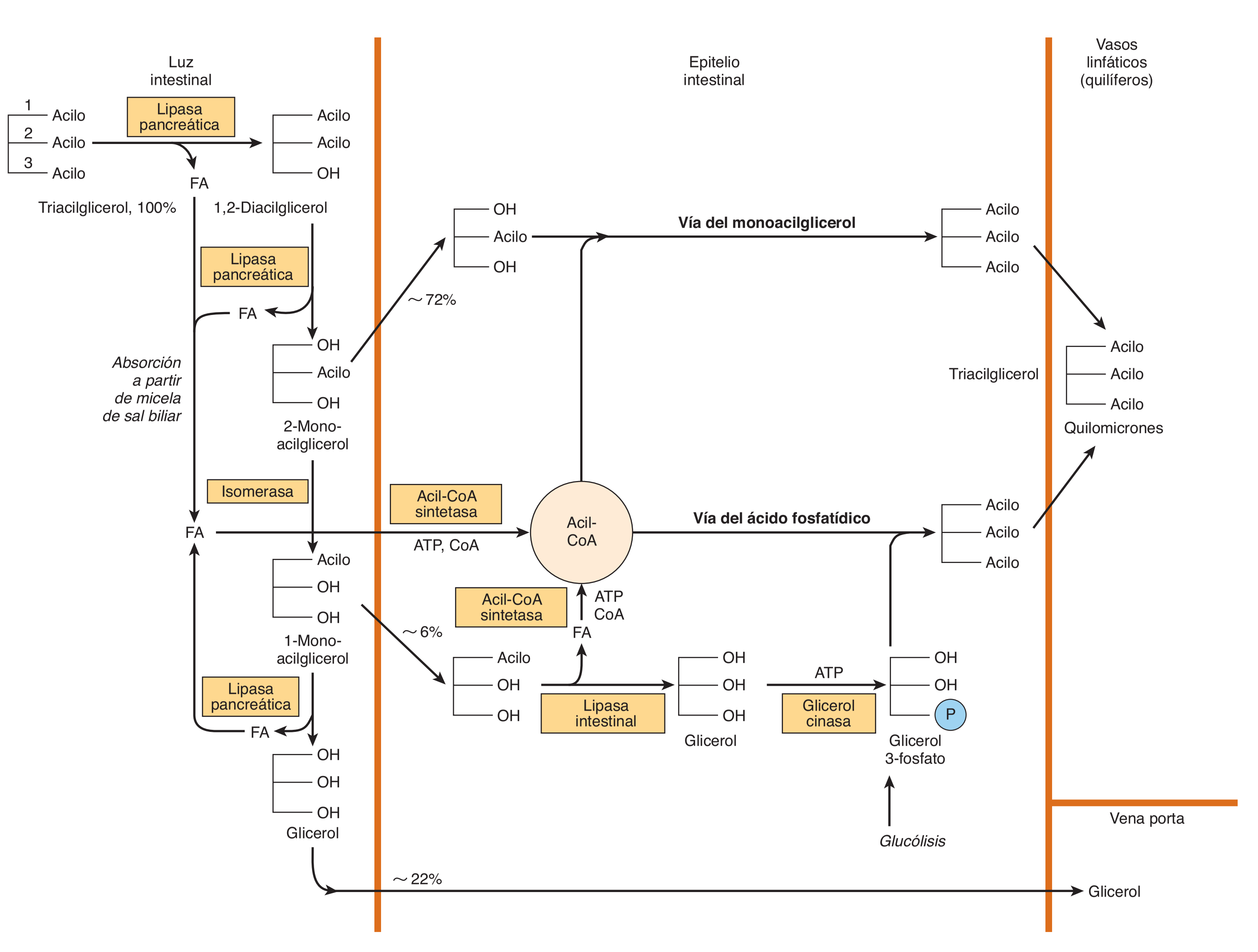


FIGURA 43–2 **Digestión y absorción de triacilgliceroles.** Los valores dados para el porcentaje de captación pueden variar de manera amplia, pero indican la importancia relativa de las tres rutas mostradas.

noácidos transportados por cualquier transportador compiten entre sí por la absorción y por la captación hacia los tejidos. Los dipéptidos y tripéptidos entran en el borde en cepillo de las células de la mucosa intestinal, donde se hidrolizan hacia aminoácidos libres, que a continuación se transportan hacia la vena porta hepática. Los péptidos relativamente grandes pueden absorberse intactos, sea mediante captación hacia células epiteliales de la mucosa (transcelular) o al pasar entre células epiteliales (paracelular). Muchos de esos péptidos son suficientemente grandes como para estimular la formación de anticuerpos; ésta es la base de las **reacciones alérgicas** a alimentos.

DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE VITAMINAS Y MINERALES

Las vitaminas y los minerales se liberan desde los alimentos durante la digestión, aunque esto no es completo, y la disponibilidad de vitaminas y minerales depende del tipo de alimento y, en especial para los minerales, de la presencia de compuestos quelantes. Las vitaminas liposolubles se absorben en las micelas de lípido que son el resultado de la digestión de grasa; las vitaminas hidrosolubles y casi todas las sales minerales se absorben desde el intestino delgado sea mediante transporte activo o a través de difusión mediada por acarreador, seguida por unión a proteínas intracelulares para lograr captación concentrativa. La absorción de la vitamina B_{12} requiere una proteína de transporte específica, el factor intrínseco (cap. 44); la absorción de calcio depende de vitamina D; la absorción de cinc probablemente requiere un ligando de unión a cinc secretado por el páncreas exocrino, y la absorción de hierro es limitada (véase más adelante).

La absorción de calcio depende de la vitamina D

Además de su función en la regulación de la homeostasis del calcio, la vitamina D se requiere para absorción intestinal del mismo. La síntesis de proteína de unión a calcio intracelular, **calbindina**, necesaria para la absorción del calcio, es inducida por la vitamina D. La vitamina D también actúa para reclutar transportadores de calcio hacia la superficie celular, de modo que aumenta la absorción de calcio con rapidez, un proceso que es independiente de la síntesis de proteína nueva.

El ácido fítico (hexafosfato de inositol) en los cereales se une al calcio en la luz del intestino, lo que evita su absorción. El fitato también produce quelación de otros minerales, entre ellos el cinc. Esto es principalmente un problema entre personas que consumen grandes cantidades de productos de trigo integral sin levadura (ázimo); la levadura contiene una enzima, la **fitasa**, que desfosforila el fitato, lo que lo hace inactivo. Las concentraciones altas de ácidos grasos en la luz intestinal, como resultado de absorción alterada de grasa, también pueden reducir la absorción del calcio, al formar sales de calcio insolubles; una ingestión alta de oxalato a veces puede causar deficiencia, porque el oxalato de calcio es insoluble.

La absorción de hierro es limitada y está estrictamente controlada, pero la vitamina C y el alcohol la aumentan

Aunque la deficiencia de hierro es un problema frecuente, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo, alrededor de 10% de la población tiene riesgo de sobrecarga de hierro (**hemocromatosis**) dependiente de mecanismos genéticos, y para disminuir el riesgo de los efectos adversos de la generación no enzimática de radicales libres por sales de hierro, la absorción se encuentra estrictamente regulada. El hierro inorgánico se transporta hacia la célula de la mucosa mediante un transportador de ion metálico divalente enlazado a protón, y se acumula dentro de la célula mediante unión a la **ferritina**. El hierro abandona la célula de la mucosa por medio de una proteína de transporte ferroportina, pero sólo si hay **transferrina** libre en el plasma a la cual unirse. Una vez que la transferrina queda saturada con hierro, cualquiera que se haya acumulado en las células de la mucosa se pierde cuando las células se desprenden. La expresión del gen que codifica para ferroportina (y posiblemente también del que codifica para el transportador de ion metálico divalente) es regulada en dirección descendente por la hepcidina, un péptido secretado por el hígado cuando las reservas corporales de hierro son adecuadas. En respuesta a hipoxia, anemia o hemorragia, la síntesis hepcidina se reduce, lo que lleva a incremento

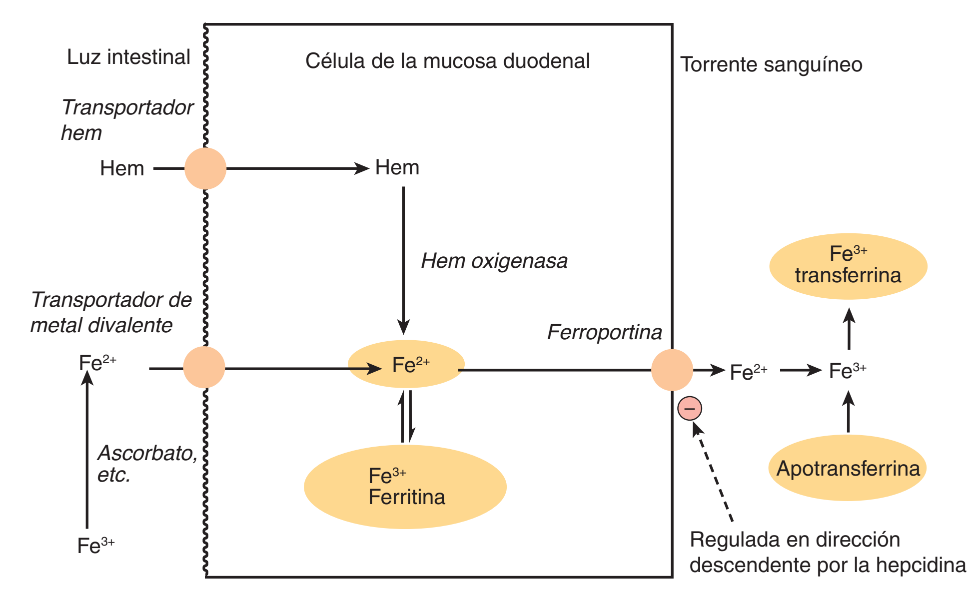


FIGURA 43–3 Absorción de hierro. La hepcidina secretada por el hígado regula en dirección descendente la síntesis de ferroportina y limita la absorción de hierro.

de la síntesis de ferroportina, y de la absorción de hierro (**figura 43-3**). Como resultado de esta barrera de la mucosa, sólo se absorbe alrededor de 10% del hierro de la dieta, y sólo 1 a 5% del que proviene de muchos alimentos vegetales (cap. 50).

El hierro inorgánico se absorbe en el estado de Fe^{2+} (reducido); por ende, la presencia de agentes reductores aumenta la absorción. El compuesto más eficaz es la **vitamina C**, y si bien las ingestiones de 40 a 80 mg de vitamina C/día son más que adecuadas para satisfacer los requerimientos, una ingestión de 25 a 50 mg por cada comida aumenta la absorción de hierro, en especial cuando se usan sales de hierro para tratar anemia por deficiencia de hierro. El alcohol y la fructosa también aumentan la absorción de hierro. El hierro hem proveniente de la carne se absorbe por separado y está considerablemente más disponible que el hierro inorgánico. Sin embargo, el calcio altera la absorción de hierro tanto inorgánico como hem: un vaso de leche con una comida reduce de manera significativa la disponibilidad de hierro.

BALANCE DE ENERGÍA: NUTRICIÓN EXCESIVA O INSUFICIENTE

Después del suministro de agua, el primer requerimiento del cuerpo es de combustibles metabólicos: grasas, carbohidratos, aminoácidos provenientes de proteínas (cuadro 16-1). La ingestión de alimento mayor que el gasto de energía lleva a **obesidad**, mientras que la ingestión menor que el gasto lleva a emaciación, **marasmo** y **kwashiorkor**. Tanto la obesidad como la desnutrición insuficiente grave se relacionan con aumento de la mortalidad. El índice de masa corporal = peso (en kilogramos)/estatura^2 (en metros) suele usarse como una manera de expresar obesidad relativa; un rango deseable es entre 20 y 25.

Los requerimientos de energía se estiman mediante medición del gasto de energía

El gasto de energía puede determinarse de manera directa, al medir la producción de calor a partir del cuerpo, pero por lo normal se estima de modo indirecto a partir del consumo de oxígeno. Hay un gasto de energía de ~20 kJ/litro de oxígeno consumido, al margen de si el combustible que se está metabolizando es carbohidrato, grasa o proteína (cuadro 16-1).

La medición de la proporción del volumen de dióxido de carbono producido:volumen de oxígeno consumido (**cociente respiratorio**, **RQ**) es una indicación de la mezcla de combustibles metabólicos que se están oxidando (cuadro 16-1).

Una técnica más reciente permite estimar el gasto total de energía durante un periodo de una a dos semanas, usando agua con doble marcado con isótopo, $^2H_2{}^{18}O$. El ^2H se pierde del cuerpo sólo en agua, mientras que el ^{18}O se pierde tanto en agua como en el dióxido de carbono; la diferencia del índice de pérdida de ambas marcas permite estimar la producción total de dióxido de carbono y, por ende, el consumo de oxígeno y el gasto de energía.

El **índice metabólico basal** (**BMR**) es el gasto de energía por el cuerpo cuando está en reposo, pero no durmiendo, en condiciones controladas de neutralidad térmica, medido alrededor de 12 h después de la última comida, y depende del peso, la edad y el sexo. El gasto total de energía depende del índice metabólico basal, la energía requerida para actividad física, y el costo de energía de la síntesis de reservas en el estado posprandial. Por ende, es posible calcular el requerimiento de energía de un individuo a partir del peso corporal, la edad, el sexo y la magnitud de la actividad física. El peso corporal afecta al BMR porque hay una mayor cantidad de tejido activo en un cuerpo de mayor tamaño. El decremento del BMR con la edad, incluso cuando el peso corporal permanece constante, es el resultado del reemplazo del tejido muscular por tejido adiposo, que es menos activo desde el punto de vista metabólico. De modo similar, las mujeres tienen un BMR bastante más bajo que los varones del mismo peso corporal y edad, porque el cuerpo de las mujeres contiene proporcionalmente más tejido adiposo.

Los requerimientos de energía aumentan con la actividad

La manera más útil de expresar el costo de energía de las actividades físicas es como un múltiplo del BMR. Las actividades sedentarias sólo usan alrededor de 1.1 a 1.2 × BMR. En contraste, el esfuerzo vigoroso, como subir escaleras, caminar a campo traviesa cuesta arriba, etc., puede usar 6 a 8 × BMR.

Un 10% del rendimiento de energía de una comida puede gastarse en la formación de reservas

Después de una comida hay un aumento considerable del índice metabólico (**termogénesis inducida por la dieta**). Una pequeña parte de esto es el costo de energía de la secreción de enzimas digestivas y del transporte activo de los productos de la digestión; la parte principal es el resultado de sintetizar reservas de glucógeno, triacilglicerol y proteína.

Hay dos formas extremas de nutrición insuficiente

El **marasmo** puede ocurrir tanto en adultos como en niños y se encuentra en grupos vulnerables de todas las poblaciones. El **kwashiorkor** afecta a niños y sólo se ha reportado en países en desarrollo. La característica distintiva del kwashiorkor es que hay retención de líquido, que lleva a edema e infiltración grasa del hígado. El marasmo es un estado de emaciación extrema; es el resultado del balance negativo de energía durante un periodo prolongado. No sólo las reservas de grasa del cuerpo se han agotado, sino que también hay emaciación de músculo, y a medida que progresa el estado hay pérdida de proteína del corazón, el hígado y los riñones. Los aminoácidos liberados por el catabolismo de proteínas hísticas se usan como una fuente de combustible metabólico y como sustratos para la gluconeogénesis con el propósito de mantener un aporte de glucosa para cerebro y eritrocitos (cap. 20). Como resultado de la síntesis reducida de proteínas, hay alteración de la respuesta inmunitaria y más riesgo de infecciones. Ocurre deterioro de la proliferación celular en la mucosa intestinal, lo que da por resultado disminución de la superficie de la mucosa intestinal, y reducción de la absorción de tantos nutrientes como están disponibles.

Los pacientes con cáncer avanzado y SIDA están desnutridos

Los pacientes con cáncer avanzado, infección por HIV y SIDA, y con varias otras enfermedades crónicas, suelen tener nutrición

insuficiente, estado llamado **caquexia**. Desde el punto de vista físico, muestran todos los signos del marasmo, pero hay bastante más pérdida de proteína corporal que en la inanición. La secreción de citocinas en respuesta a infección y cáncer aumenta el catabolismo de proteína hística por la vía de la ubiquitina-proteasoma dependiente de ATP, de modo que aumenta el gasto de energía. Esto difiere del marasmo, en el cual la síntesis de proteína está reducida, pero el catabolismo no está afectado. Los pacientes son **hipermetabólicos**, esto es, tienen un aumento considerable del índice metabólico basal. Además de la activación de la vía de ubiquitina-proteasoma del catabolismo de proteína, otros tres factores están involucrados. Muchos tumores metabolizan glucosa de manera anaeróbica para liberar lactato; este último a continuación se usa para la gluconeogénesis en el hígado, que consume energía con un costo neto de 6 ATP por cada mol de glucosa que entra en el ciclo (figura 20-4). Hay aumento de la estimulación de **proteínas desacopladoras** por **citocinas**, lo que lleva a termogénesis y aumento de la oxidación de combustibles metabólicos. Ocurre **ingreso inútil de lípidos a ciclo** porque la lipasa sensible a hormona es activada por un proteoglucano secretado por tumores, lo que da por resultado la liberación de ácidos grasos desde el tejido adiposo, y reesterificación (con un costo de ATP) hacia triacilgliceroles en el hígado, que se exportan en VLDL.

El kwashiorkor afecta a niños que tienen nutrición insuficiente

Además de la emaciación del tejido muscular, la pérdida de mucosa intestinal y respuestas inmunitarias alteradas que se observan en el marasmo, los niños con **kwashiorkor** muestran varios datos típicos. La característica que define el problema es el **edema**, relacionado con decremento de la concentración de proteínas plasmáticas. Además, hay agrandamiento del hígado como resultado de acumulación de grasa. Antes se creía que la causa del kwashiorkor era falta de proteína, con ingreso más o menos adecuado de energía; sin embargo, el análisis de las dietas de los niños afectados muestra que no es así. La deficiencia de proteína lleva a disminución del crecimiento, y en niños con kwashiorkor esta disminución resulta menos acentuada que en aquellos con marasmo. Además, el edema empieza a disminuir en etapas tempranas del tratamiento, cuando el niño aún está recibiendo una dieta baja en proteína.

Con mucha frecuencia, una infección precipita el kwashiorkor. Superpuesta sobre la deficiencia general de alimento, probablemente hay una deficiencia de nutrientes antioxidantes, como cinc, cobre, caroteno y vitaminas C y E. La **explosión respiratoria** en respuesta a infección lleva a la producción de oxígeno y **radicales libres** halógeno como parte de la acción citotóxica de macrófagos estimulados. Este estrés oxidante añadido bien puede desencadenar kwashiorkor (cap. 54).

REQUERIMIENTOS DE PROTEÍNA Y AMINOÁCIDO

Los requerimientos de proteína pueden determinarse al medir el balance de nitrógeno

El estado de nutrición en cuanto a proteína puede determinarse al medir la ingestión en la dieta y el egreso de compuestos nitrogenados desde el cuerpo. Aunque los ácidos nucleicos también contienen nitrógeno, la proteína es la principal fuente de nitrógeno en la dieta, y la medición de la ingestión total de nitrógeno da un buen estimado de la ingestión de proteína (miligramos de $N \times 6.25$ = miligramos de proteína, ya que el *N* es 16% de casi todas las proteínas). El egreso de *N* desde el cuerpo ocurre principalmente en la urea, y en cantidades menores de otros compuestos en la orina, proteína no digerida en las heces; también pueden perderse cantidades importantes en el sudor y en la piel descamada. La diferencia entre el ingreso y el egreso de compuestos nitrogenados se conoce como el **balance de nitrógeno**. Pueden definirse tres estados. En un adulto sano, el balance de nitrógeno está en **equilibrio**, cuando el ingreso es igual al egreso, y no hay cambio del contenido corporal total de proteína. En un niño en crecimiento, una embarazada, o una persona en recuperación luego de pérdida de proteína, la excreción de compuestos nitrogenados es menor que la ingestión en la dieta, y hay retención neta de nitrógeno en el cuerpo como proteína: **balance positivo de nitrógeno**. En respuesta a traumatismo o infección, o si la ingestión de proteína es inadecuada para satisfacer los requerimientos, hay pérdida neta de nitrógeno de proteína desde el cuerpo: **balance negativo de nitrógeno**. Salvo cuando se reemplazan las pérdidas de proteína, el equilibrio de nitrógeno puede mantenerse a cualquier nivel de ingestión de proteína por arriba de los requerimientos. Una ingestión alta de proteína no lleva a balance positivo de nitrógeno; aunque aumenta el índice de síntesis de proteína, también aumenta el índice de catabolismo de proteína, de modo que el equilibrio de nitrógeno se mantiene, aunque con un índice más alto de recambio de proteína. Tanto la síntesis de proteína como el catabolismo de la misma son costosos en lo que se refiere a ATP, y esta tasa aumentada de recambio de proteína explica el incremento de la termogénesis inducido por la dieta que se observa en personas que están consumiendo una dieta alta en proteína.

El catabolismo continuo de proteínas hísticas crea el requerimiento de proteína en la dieta, incluso en un adulto que no está creciendo; aunque algunos de los aminoácidos liberados se pueden reutilizar, gran parte se usa para la gluconeogénesis en el estado de ayuno. Estudios sobre el balance de nitrógeno muestran que el requerimiento diario promedio es de 0.66 g de proteína/kg de peso corporal (se permite 0.825 para variación individual), aproximadamente 55 g/día, o 0.825% del ingreso de energía. Las ingestiones promedio de proteína en países desarrollados son del orden de 80 a 100 g/día, esto es, 14 a 15% del ingreso de energía. Dado que en los niños en crecimiento la proteína en el cuerpo está aumentando, tienen un requerimiento proporcionalmente mayor que los adultos, y deben estar en balance positivo de nitrógeno. Aun así, la necesidad es relativamente pequeña en comparación con el requerimiento para recambio de proteína. En algunos países, la ingestión de proteína es inadecuada para satisfacer estos requerimientos, lo que da por resultado cese del crecimiento. Hay poca o ninguna evidencia de que los atletas y los fisicoculturistas requieran grandes cantidades de proteína; simplemente consumir más de una dieta normal que proporcione alrededor de 14% de la energía a partir de proteína suministrará proteína más que suficiente para la síntesis aumentada de proteína muscular, el principal requerimiento es incremento de la ingestión de energía para permitir aumento de la síntesis de proteína.

Hay pérdida de proteína corporal en respuesta a traumatismo e infección

Una de las reacciones metabólicas a un traumatismo importante, como una quemadura, una fractura de una extremidad, o intervención quirúrgica, es un aumento del catabolismo neto de proteínas hísticas, en respuesta a citocinas y hormonas glucocorticoides, y como resultado de utilización excesiva de treonina y cisteína en la síntesis de **proteínas de fase aguda**. Hasta 6 a 7% de la proteína corporal total puede perderse al cabo de 10 días. El reposo prolongado en cama da por resultado pérdida considerable de proteína debido a atrofia de músculos. El catabolismo de proteína puede estar aumentado en respuesta a citocinas y sin el estímulo del ejercicio no se remplaza por completo. La proteína perdida se remplaza durante la **convalecencia**, cuando hay balance positivo de nitrógeno. Una dieta normal es adecuada para permitir este remplazo. De nuevo, como sucede con los atletas, una dieta normal es suficiente para permitir esta síntesis de proteína de remplazo.

El requerimiento no es sólo de la proteína, sino de aminoácidos específicos

No todas las proteínas son equivalentes desde el punto de vista nutricional. Se necesita una cantidad mayor de algunas que de otras para mantener el balance de nitrógeno porque diferentes proteínas contienen diferentes cantidades de los diversos aminoácidos. El requerimiento del cuerpo consta de aminoácidos en las proporciones correctas para remplazar proteínas hísticas. Los aminoácidos pueden dividirse en dos grupos: **esenciales** y **no esenciales**. Hay nueve aminoácidos esenciales o indispensables, que no se pueden sintetizar en el cuerpo: histidina, isoleucina, leucina, glicina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina. Si uno de ellos falta o es inadecuado, al margen de la ingestión total de proteína, será imposible mantener el balance de nitrógeno, puesto que no habrá una cantidad suficiente de ese aminoácido para la síntesis de proteína.

Dos aminoácidos, la cisteína y tirosina, se pueden sintetizar en el cuerpo, pero sólo a partir de aminoácidos esenciales precursores, cisteína a partir de metionina, y tirosina a partir de fenilalanina. Las ingestiones de cisteína y tirosina en la dieta deben afectar los requerimientos de metionina y fenilalanina. Los 11 aminoácidos restantes en las proteínas se consideran no esenciales o dispensables, porque pueden sintetizarse en tanto haya proteína total suficiente en la dieta. Si se omite uno de estos aminoácidos de la dieta, aún puede mantenerse el balance de nitrógeno. Sin embargo, sólo tres aminoácidos: alanina, aspartato y glutamato, puede considerarse que son en verdad dispensables; se sintetizan a partir de intermediarios metabólicos comunes (piruvato, oxaloacetato y cetoglutarato, respectivamente). Los aminoácidos restantes se consideran no esenciales, pero en algunas circunstancias el requerimiento puede sobrepasar la capacidad de síntesis.

RESUMEN

- La digestión comprende hidrólisis de moléculas de alimento hacia moléculas de menor tamaño para absorción a través del epitelio gastrointestinal. Los polisacáridos se absorben como monosacáridos, los triacilgliceroles como 2-monoacilgliceroles, ácidos grasos y glicerol, y las proteínas como aminoácidos y pequeños péptidos.
- Los trastornos digestivos surgen como resultado de: 1) deficiencia enzimática, por ejemplo, lactasa y sacarasa; 2) malabsorción, por ejemplo, de glucosa y galactosa como resultado de defectos del cotransportador de Na^+-glucosa (SGLT 1); 3) absorción de polipéptidos no hidrolizados que lleva a respuestas inmunitarias, por ejemplo, en la enfermedad celiaca, y 4) precipitación de colesterol desde la bilis como cálculos biliares.
- Además de agua, la dieta debe proporcionar combustibles metabólicos (carbohidratos y grasas) para el crecimiento y la actividad corporales, proteína para la síntesis de proteínas tisulares, fibra para dar volumen al contenido intestinal, minerales para funciones metabólicas específicas (cap. 44), ácidos grasos poliinsaturados de las familias *n*-3 y *n*-6, y vitaminas —compuestos orgánicos necesarios en pequeñas cantidades para otras funciones esenciales (cap. 44).
- Se requieren 20 aminoácidos diferentes para la síntesis de proteína, nueve de los cuales son esenciales en la dieta del ser humano. La cantidad de proteína requerida se puede cuantificar mediante estudios del balance de nitrógeno, y está afectada por la calidad de proteína —las cantidades de aminoácidos esenciales presentes en las proteínas de la dieta en comparación con las cantidades requeridas para la síntesis de proteína tisular.
- La nutrición insuficiente ocurre en dos formas extremas: marasmo, en adultos y niños, y kwashiorkor en niños. La enfermedad crónica también puede llevar a nutrición insuficiente (caquexia) como resultado de hipermetabolismo.
- La sobrenutrición lleva a ingestión de energía excesiva y se asocia con enfermedades no transmisibles crónicas, como obesidad, diabetes tipo 2, aterosclerosis, cáncer e hipertensión.

REFERENCIAS

Bender DA, Bender AE: *Nutrition: A Reference Handbook*. Oxford University Press, 1997.

Fuller MF, Garllick PJ: Human amino acid requirements: can the controversy be resolved? Ann Rev Nutr 1994;14:217.

Geissler C, Powers HJ (editors): *Human Nutrition*, 12th ed. Elsevier, 2010.

Gibney MJ, Lanham-New S, Cassidy A, et al: *Introduction to Human Nutrition, The Nutrition Society Textbook Series*, 2nd ed. Wiley–Blackwell, 2009.

Institute of Medicine: *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients)*. National Academies Press, 2002.

Pencharz PB, Ball RO: Different approaches to define individual amino acid requirements. Ann Rev Nutr 2003;23:101.

Royal College of Physicians: *Nutrition and Patients—A Doctor's Responsibility*. Royal College of Physicians, 2002.

Swallow DM: Genetic influences on carbohydrate digestion. Nutr Res Rev 2003;16:37.

World Health Organization Technical Report Series 894: *Obesity—Preventing and Managing the Global Epidemic*. WHO, 2000.

World Health Organization Technical Report Series 916: *Diet and the Prevention of Chronic Diseases*. WHO, 2003.

World Health Organization Technical report Series 935: *Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition*. WHO, 2007.

CAPÍTULO

44

Micronutrientes: vitaminas y minerales

David A. Bender, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir cómo se determinan las ingestiones de referencia para vitaminas y minerales, y explicar por qué difieren las ingestiones de referencia publicadas por diferentes autoridades nacionales e internacionales.
- Definir una vitamina y describir el metabolismo, las funciones principales, las enfermedades por deficiencia asociadas con ingestión insuficiente, y la toxicidad de las ingestiones excesivas de las vitaminas.
- Explicar por qué se requieren sales minerales en la dieta.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las vitaminas son un grupo de nutrientes orgánicos necesarios en pequeñas cantidades para diversas funciones bioquímicas que, en general, no se pueden sintetizar en el organismo y, en consecuencia, deben encontrarse en la dieta.

Las vitaminas liposolubles son compuestos hidrofóbicos que sólo pueden absorberse con eficiencia cuando hay absorción normal de grasa. Al igual que otros lípidos, se transportan en la sangre en lipoproteínas o fijas a proteínas de unión específicas. Tienen diversas funciones; por ejemplo, vitamina A, visión y diferenciación celular; vitamina D, metabolismo del calcio y el fosfato, y diferenciación celular; vitamina E, antioxidante, y vitamina K, coagulación de la sangre. Al igual que la dieta insuficiente, las enfermedades o estados que afectan la digestión y absorción de las vitaminas liposolubles, como dieta muy baja en grasas, esteatorrea y trastornos del sistema biliar, pueden llevar a síndromes de deficiencia, entre ellos ceguera nocturna y xeroftalmía (vitamina A); raquitismo en niños de corta edad y osteomalacia en adultos (vitamina D); trastornos neurológicos y anemia hemolítica del recién nacido (vitamina E) y enfermedad hemorrágica del recién nacido (vitamina K). La toxicidad puede producirse por ingestión excesiva de vitaminas A y D. La vitamina A y los carotenos (muchos de los cuales son precursores de la vitamina A), y la vitamina E, son antioxidantes (cap. 45) y tienen posibles funciones en la prevención de aterosclerosis y cáncer.

Las vitaminas hidrosolubles son las vitaminas B y la vitamina C, funcionan principalmente como cofactores de enzimas. El ácido fólico actúa como un acarreador de unidades de un carbono. La deficiencia de una sola vitamina del complejo B es rara, dado que las dietas inadecuadas se relacionan más a menudo con **estados de deficiencia múltiple**. Sin embargo, los síndromes específicos son característicos de deficiencias de vitaminas individuales, por ejemplo, el beriberi (tiamina); queilosis, glositis, seborrea (riboflavina); pelagra (niacina); anemia megaloblástica, aciduria metilmalónica, y anemia perniciosa (vitamina B_{12}); anemia megaloblástica (ácido fólico), y escorbuto (vitamina C).

Los elementos minerales inorgánicos que tienen una función en el cuerpo deben hallarse en la dieta. Cuando la ingestión es insuficiente, pueden surgir signos de deficiencia; por ejemplo, anemia (hierro) y cretinismo y bocio (yodo). Las ingestiones excesivas pueden ser tóxicas.

La determinación de los requerimientos de micronutrientes depende de los criterios de suficiencia elegidos

Para cualquier nutriente, hay un rango de ingestiones entre la que es claramente inadecuada, lo que conduce a **enfermedad clínica por deficiencia**, y la que excede tanto la capacidad metabólica del organismo que puede haber signos de **toxicidad**. Entre estos dos extremos hay un nivel de ingestión que es adecuado para la salud normal y el mantenimiento de la integridad metabólica. No todos los individuos tienen el mismo requerimiento de nutrientes, incluso cuando se calcula con base en el tamaño del cuerpo o el gasto de energía. Hay una gama de requerimientos individuales de hasta 25% alrededor de la media. Por ende, para evaluar la suficiencia de las dietas, es necesario establecer un nivel de referencia de ingestión lo bastante alto como para asegurar que nadie sufra deficiencia ni tenga riesgo de toxicidad. Si se supone que los requerimientos individuales están distribuidos de un modo estadísticamente normal alrededor del requerimiento medio observado, un rango de ±2 por la desviación estándar (SD) alrededor de la media incluye los requerimientos de 95% de la población. Por lo tanto, las ingestiones de referencia o recomendadas se establecen en el requerimiento promedio

CUADRO 44–1 Ingesta de nutrientes de referencia de vitaminas y minerales, Reino Unido, 1991

Edad	Vit. B_1 (mg)	Vit. B_2 (mg)	Niacina (mg)	Vit. B_6 (mg)	Vit. B_{12} (µg)	Folato (µg)	Vit. C (mg)	Vit. A (µg)	Vit. D (µg)	Ca (mg)	P (mg)	Mg (mg)	Fe (mg)	Zn (mg)	Cu (mg)	Se (µg)	I (µg)
0 a 3 meses	0.2	0.4	3	0.2	0.3	50	25	350	8.5	525	400	55	1.7	4.0	0.2	10	50
4 a 6 meses	0.2	0.4	3	0.2	0.3	50	25	350	8.5	525	400	60	4.3	4.0	0.3	13	60
7 a 9 meses	0.2	0.4	4	0.3	0.4	50	25	350	7	525	400	75	7.8	5.0	0.3	10	60
10 a 12 meses	0.3	0.4	5	0.4	0.4	50	25	350	7	525	400	80	7.8	5.0	0.3	10	60
1 a 3 años	0.5	0.6	8	0.7	0.5	70	30	400	7	350	270	85	6.9	5.0	0.4	15	70
4 a 6 años	0.7	0.8	11	0.9	0.8	100	30	500	–	450	350	120	6.1	6.5	0.6	20	100
7 a 10 años	0.7	1.0	12	1.0	1.0	150	30	500	–	550	450	200	8.7	7.0	0.7	30	110
Varones																	
11 a 14 años	0.9	1.2	15	1.2	1.2	200	35	600	–	1 000	775	280	11.3	9.0	0.8	45	130
15 a 18 años	1.1	1.3	18	1.5	1.5	200	40	700	–	1 000	775	300	11.3	9.5	1.0	70	140
19 a 50 años	1.0	1.3	17	1.4	1.5	200	40	700	–	700	550	300	8.7	9.5	1.2	75	140
Más de 50 años	0.9	1.3	16	1.4	1.5	200	40	700	10	700	550	300	8.7	9.5	1.2	75	140
Mujeres																	
11 a 14 años	0.7	1.1	12	1.0	1.2	200	35	600	–	800	625	280	14.8	9.0	0.8	45	130
15 a 18 años	0.8	1.1	14	1.2	1.5	200	40	600	–	800	6 254	300	14.8	7.0	1.0	60	140
19 a 50 años	0.8	1.1	13	1.2	1.5	200	40	600	–	700	550	270	14.8	7.0	1.2	60	140
Más de 50 años	0.8	1.1	12	1.2	1.5	200	40	600	10	700	550	270	8.7	7.0	1.2	60	140
Embarazadas	+0.1	+0.3	–	–	–	+100	+10	+100	10	–	–	–					
En lactación	+0.1	+0.5	+2	–	+0.5	+60	+30	+350	10	+550	+440	+ 50		+6.0	+0.3	+15	

Fuente: Department of Health. *Dietary Reference Values for Food Energy and Nutrients for the United Kingdom* . HMSO, Londres, 1991.

más 2 × SD y, así, satisfacen o exceden los requerimientos de 97.5% de la población.

Las tablas de ingesta de referencia y recomendada de vitaminas y minerales publicadas por diferentes autoridades nacionales e internacionales (**cuadros 44-1** a **44-4**) difieren entre sí debido a diferentes interpretaciones de los datos disponibles, y la disponibilidad de nuevos datos experimentales en las publicaciones que van saliendo a la luz.

LAS VITAMINAS SON UN GRUPO DISPAR DE COMPUESTOS CON DIVERSAS FUNCIONES METABÓLICAS

Una vitamina se define como un compuesto orgánico que se necesita en la dieta en pequeñas cantidades para el mantenimiento de la integridad metabólica normal. La deficiencia da por resultado una enfermedad específica, que sólo se cura o previene al restituir la vitamina a la dieta (**cuadro 44-5**). Empero, la **vitamina D**, que se forma en la piel a partir del 7-dehidrocolesterol en el momento de la exposición a la luz solar, y la **niacina**, que puede formarse a partir del aminoácido esencial triptófano, no satisfacen estrictamente esta definición.

VITAMINAS LIPOSOLUBLES

DOS GRUPOS DE COMPUESTOS TIENEN ACTIVIDAD DE VITAMINA A

Los retinoides comprenden el **retinol**, el **retinaldehído** y el **ácido retinoico** (vitamina A preformada, que sólo se encuentra en alimentos de origen animal); los carotenoides, que se encuentran en vegetales, constan de carotenos y compuestos relacionados; muchos son precursores de la vitamina A, puesto que se pueden dividir para dar retinaldehído, y después retinol y ácido retinoico (**figura 44-1**). Los α-, β- y γ- carotenos y la criptoxantina son desde el punto de vista cuantitativo los carotenoides provitamina A más importantes. El β-caroteno y otros carotenoides o provitamina A se dividen en la mucosa intestinal por medio de la caroteno dioxigenasa, lo que da retinaldehído, que se reduce hacia retinol, se esterifica y secreta en quilomicrones junto con ésteres formados a partir del retinol de la dieta. La actividad intestinal de la caroteno dioxigenasa es baja, de manera que una proporción relativamente grande del β-caroteno ingerido puede aparecer en la circulación sin cambios. Si bien el principal sitio de ataque de la caroteno dioxigenasa es el enlace central del β-caroteno, también puede ocurrir división asimétrica, lo que da pie a la formación de 8′-, 10′- y 12′-apo-carotenales, que se oxidan hacia ácido retinoico, pero no pueden usarse como fuentes de retinol o retinaldehído.

CUADRO 44–2 Ingesta de referencia de vitaminas y minerales en la población, Unión Europea, 1993

Edad	Vit. A (μg)	Vit. B_1 (mg)	Vit. B_2 (mg)	Niacina (mg)	Vit. B_6 (mg)	Folato (μg)	Vit. B_{12} (μg)	Vit. C (mg)	Ca (mg)	P (mg)	Fe (mg)	Zn (mg)	Cu (mg)	Se (μg)	I (μg)
6 a 12 meses	350	0.3	0.4	5	0.4	50	0.5	20	400	300	6	4	0.3	8	50
1 a 3 años	400	0.5	0.8	9	0.7	100	0.7	25	400	300	4	4	0.4	10	70
4 a 6 años	400	0.7	1.0	11	0.9	130	0.9	25	450	350	4	6	0.6	15	90
7 a 10 años	500	0.8	1.2	13	1.1	150	1.0	30	550	450	6	7	0.7	25	100
Varones															
11 a 14 años	600	1.0	1.4	15	1.3	180	1.3	35	1 000	775	10	9	0.8	35	120
15 a 17 años	700	1.2	1.6	18	1.5	200	1.4	40	1 000	775	13	9	1.0	45	130
Más de 18 años	700	1.1	1.6	18	1.5	200	1.4	45	700	550	9	9.5	1.1	55	130
Mujeres															
11 a 14 años	600	0.9	1.2	14	1.1	180	1.3	35	800	625	18	9	0.8	35	120
15 a 17 años	600	0.9	1.3	14	1.1	200	1.4	40	800	625	17	7	1.0	45	130
Más de 18 años	600	0.9	1.3	14	1.1	200	1.4	45	700	550	16[1]	7	1.1	55	130
Embarazadas	700	1.0	1.6	14	1.3	400	1.6	55	700	550	[1]	7	1.1	55	130
En lactación	950	1.1	1.7	16	1.4	350	1.9	70	1 200	950	16	12	1.4	70	160

Fuente: Scientific Committee for Food *Nutrient and energy intakes for the European Community* , Commission of the European Communities, Luxemburgo, 1993.

Aunque parecería que una molécula de β-caroteno debe dar dos de retinol, esto no es así en la práctica; 6 μg de β-caroteno equivalen a 1 μg de retinol preformado. Por ende, la cantidad total de vitamina A en los alimentos se expresa como microgramos de equivalentes de retinol = μg de vitamina A preformada + 1/6 × μg de β-caroteno + 1/12 × μg de otros carotenoides provitamina A. Antes de que se dispusiera de vitamina A pura para análisis químicos, el contenido de vitamina A de los alimentos se determinaba mediante análisis biológico, y los resultados se expresaban como unidades internacionales (ui); 1 ui = 0.3 μg de retinol; 1 μg de retinol = 3.33 ui. Aunque son obsoletas, las ui a veces aún se usan en las etiquetas de los alimentos. En 2001 el reporte de The USA/Canadian Dietary Reference Values introdujo el término *equivalente de actividad de retinol* para tomar en cuenta la absorción y el metabolismo incompletos de los carotenoides; 1 RAE = 1 μg de holo-*trans*-retinol, 12 μg de β-caroteno, 24 μg de α-caroteno o β-criptoxantina. Con base en esto, una ui de actividad de vitamina A es igual a 3.6 μg de β-caroteno o 7.2 μg de otros carotenoides provitamina A.

La vitamina A tiene una función en la visión

En la retina, el retinaldehído funciona como el grupo prostético de proteínas opsina sensibles a la luz, lo que forma **rodopsina** (en bastones) y **iodopsina** (en conos). Cualquier célula de cono sólo contiene un tipo de opsina y es sensible a sólo un color. En el epitelio pigmentado de la retina, el todo-*trans*-retinol se isomeriza hacia 11-*cis*-retinol y se oxida hacia 11-*cis*-retinaldehído, el cual reacciona con un residuo lisina en la opsina, lo que forma la holoproteína rodopsina. La absorción de luz por la rodopsina origina isomerización del retinaldehído desde 11-*cis* hacia todo-*trans* y un cambio conformacional de la opsina (**figura 44-2**). Esto causa la liberación de retinaldehído desde la proteína y el inicio de un impulso nervioso. La forma excitada inicial de la rodopsina, la batorrodopsina, se sintetiza en el transcurso de picosegundos luego de iluminación. Después hay una serie de cambios conformacionales que llevan a la formación de metarodopsina II, que inicia una cascada de amplificación de nucleótido guanina y después un impulso nervioso. El paso final es la hidrólisis para liberar todo-*trans*-retinaldehído y opsina. La clave para el inicio del ciclo visual es la disponibilidad de 11-*cis*-retinaldehído y, en consecuencia, vitamina A. Cuando hay deficiencia, el tiempo que se requiere para adaptarse a la oscuridad está aumentado y hay menor capacidad para ver cuando hay poca luz.

El ácido retinoico participa en la regulación de la expresión de gen y en la diferenciación de tejido

Una función importante de la vitamina A yace en el control de la diferenciación y el recambio celulares. El ácido todo-*trans*-retinoico y el ácido 9-*cis*-retinoico (figura 44-1) regulan el crecimiento, el desarrollo y la diferenciación de tejido; tienen diferentes acciones en distintos tejidos. Al igual que las hormonas tiroideas y esteroides y la vitamina D, el ácido retinoico se une a receptores nucleares que se unen a elementos de respuesta del DNA y regulan la transcripción de genes específicos. Hay dos familias de receptores de retinoides nucleares: los receptores de ácido retinoico (RAR) se unen a ácidos todos-*trans*-retinoico o ácidos 9-*cis*-retinoico, y los receptores X retinoide (RXR) se unen al ácido 9-*cis*-retinoico. Asimismo, los receptores X retinoides forman dímeros con vitamina D, hormona tiroidea, y

CUADRO 44–3 Raciones en la dieta recomendadas e ingesta aceptable para vitaminas y minerales, Estados Unidos y Canadá, 1997–2001

Edad	Vit. A (μg)	Vit. D (μg)	Vit. E (mg)	Vit. K (μg)	Vit. B_1 (mg)	Vit. B_2 (mg)	Niacina (mg)	Vit. B_6 (mg)	Folato (μg)	Vit. B_{12} (μg)	Vit. C (mg)	Ca (mg)	P (mg)	Fe (mg)	Zn (mg)	Cu (mg)	Se (μg)	I (μg)
0 a 6 meses	400	5	4	2.0	0.2	0.3	2	0.1	65	0.4	40	210	100	–	2.0	200	15	110
7 a 12 meses	500	5	5	2.5	0.3	0.4	4	0.3	80	0.5	50	270	275	11	3	220	20	130
1 a 3 años	300	5	6	30	0.5	0.5	6	0.5	150	0.9	15	500	460	7	3	340	20	90
4 a 8 años	400	5	7	55	0.5	0.6	8	0.6	200	1.2	25	800	500	10	5	440	30	90
Varones																		
9 a 13 años	600	5	11	60	0.9	0.9	12	1.0	300	1.8	45	1 300	1 250	8	8	700	40	120
14 a 18 años	900	5	15	75	1.2	1.3	16	1.3	400	2.4	75	1 300	1 250	11	11	890	55	150
19 a 30 años	900	5	15	120	1.2	1.3	16	1.3	400	2.4	90	1 000	700	8	11	900	55	150
31 a 50 años	900	5	15	120	1.2	1.3	16	1.3	400	2.4	90	1 000	700	8	11	900	55	150
51 a 70 años	900	10	15	120	1.2	1.3	16	1.7	400	2.4	90	1 200	700	8	11	900	55	150
>70 años	900	15	15	120	1.2	1.3	16	1.7	400	2.4	90	1 200	700	8	11	900	55	150
Mujeres																		
9 a 13 años	600	5	11	60	0.9	0.9	12	1.0	300	1.8	45	1 300	1 250	8	8	700	40	120
14 a 18 años	700	5	15	75	1.0	1.0	14	1.2	400	2.4	65	1 300	1 250	15	9	890	55	150
19 a 30 años	700	5	15	90	1.1	1.1	14	1.3	400	2.4	75	1 000	700	18	8	900	55	150
31 a 50 años	700	5	15	90	1.1	1.1	14	1.3	400	2.4	75	1 000	700	18	8	900	55	150
51 a 70 años	700	10	15	90	1.1	1.1	14	1.5	400	2.4	75	1 200	700	8	8	900	55	150
>70 años	700	15	15	90	1.1	1.1	14	1.5	400	2.4	75	1 200	700	8	8	900	55	150
Embarazadas	770	5	15	90	1.4	1.4	18	1.9	600	2.6	85	1 000	700	27	11	1 000	60	220
En lactación	900	5	16	90	1.4	1.6	17	2.0	500	2.8	120	1 000	700	9	12	1 300	70	290

(Las cifras para lactantes de menos de 12 meses son ingestiones suficientes, basadas en la ingestión media observada de lactantes alimentados principalmente con leche materna; para nutrientes que no son vitamina K las cifras son RDA, basadas en el requerimiento promedio estimado + 2 SD; las cifras para vitamina K son ingestiones adecuadas, con base en las ingestiones promedio observadas.)

Fuente: Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine Dietary Reference Intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D and fluoride, 1997; dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B_6, folate, vitamin B_{12}, pantothenic acid, biotin and choline, 1998; dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids, 2000; dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc, 2001, National Academy Press, Washington DC.

otros receptores de hormona de acción nuclear. La deficiencia de vitamina A altera la función de la vitamina debido a falta de ácido 9-*cis*-retinoico para formar dímeros de receptor, mientras que la vitamina A excesiva también altera la función de la vitamina D, debido a formación de RXR-homodímeros, lo que significa que no hay suficiente RXR disponible para formar heterodímeros con el receptor de vitamina D.

La deficiencia de vitamina A es un importante problema de salud pública en todo el mundo

La deficiencia de vitamina A es la causa prevenible más importante de ceguera. El signo más temprano de deficiencia es una pérdida de la sensibilidad a la luz verde, seguida por deterioro de la adaptación a la luz tenue, seguido por ceguera nocturna. La deficiencia más prolongada conduce a **xeroftalmía**: queratinización de la córnea y ceguera. La vitamina A también tiene una función importante en la diferenciación de las células del sistema inmunitario, e incluso la deficiencia leve da pie a incremento de la susceptibilidad a enfermedades infecciosas. Asimismo, la síntesis de proteína de unión a retinol disminuye en respuesta a infección (es una **proteína de fase aguda** negativa), lo que causa decremento de la concentración circulante de la vitamina, y altera más las respuestas inmunitarias.

El exceso de vitamina A es tóxico

La capacidad para metabolizar vitamina A es limitada, y la ingestión excesiva lleva a acumulación más allá de la capacidad de las proteínas de unión, de modo que la vitamina A no unida suscita daño de tejidos. Los síntomas de toxicidad afectan: el sistema nervioso central (cefalalgia, náuseas, ataxia y anorexia, todas relacionadas con aumento de la presión del líquido cefalorraquídeo); el hígado (hepatomegalia con cambios histológicos e hiperlipidemia); homeostasis del calcio (engrosamiento de

CUADRO 44–4 Ingesta de nutrientes recomendada para vitaminas, FAO 2001

Edad	Vit. A (μg)	Vit. D (μg)	Vit. K (μg)	Vit. B_1 (mg)	Vit. B_2 (mg)	Niacina (mg)	Vit. B_6 (mg)	Folato (μg)	Vit. B_{12} (μg)	Vit. C (mg)	Ácido pantoténico (mg)	Biotina (μg)
0 a 6 meses	375	5	5	0.2	0.3	2	0.1	80	0.4	25	1.7	5
7 a 12 meses	400	5	10	0.3	0.4	4	0.3	80	0.5	30	1.8	6
1 a 3 años	400	5	15	0.5	0.5	6	0.5	160	0.9	30	2.0	8
4 a 6 años	450	5	20	0.6	0.6	8	0.6	200	1.2	30	3.0	12
7 a 9 años	500	5	25	0.9	0.9	12	1.0	300	1.8	35	4.0	20
Varones												
10 a 18 años	600	5	35–55	1.2	1.3	16	1.3	400	2.4	40	5.0	30
19 a 50 años	600	5	65	1.2	1.3	16	1.3	400	2.4	45	5.0	30
50 a 65 años	600	10	65	1.2	1.3	16	1.7	400	2.4	45	5.0	30
>65 años	600	15	65	1.2	1.3	16	1.7	400	2.4	45	5.0	30
Mujeres												
10 a 18 años	600	5	35–55	1.1	1.0	16	1.2	400	2.4	40	5.0	25
19 a 50 años	600	5	55	1.1	1.1	14	1.3	400	2.4	45	5.0	30
50 a 65 años	600	10	55	1.1	1.1	14	1.5	400	2.4	45	5.0	30
>65 años	600	15	55	1.1	1.1	14	1.5	400	2.4	45	5.0	30
Embarazadas	800	5	55	1.4	1.4	18	1.9	600	2.6	55	6.0	30
En lactación	850	5	55	1.5	1.6	17	2.0	500	2.8	70	7.0	35

Fuente: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization, *Human Vitamin and Mineral Requirements*, FAO, 2001.

los huesos largos, hipercalcemia y calcificación de tejidos blandos), y la piel (resequedad excesiva, descamación y alopecia).

LA VITAMINA D EN REALIDAD ES UNA HORMONA

La vitamina D no es estrictamente una vitamina, porque puede sintetizarse en la piel, y en la mayor parte de las circunstancias esa es la principal fuente de la vitamina; sólo cuando la exposición a la luz solar es inadecuada se necesita una fuente en la dieta. Su principal función es la regulación de la absorción y la homeostasis del calcio; la mayor parte de sus acciones están mediadas por receptores nucleares que regulan la expresión de gen. También participa en la regulación de la proliferación y diferenciación celulares. Hay evidencia de que las ingestiones mucho más altas que las requeridas para mantener la homeostasis del calcio aminoran el riesgo de resistencia a la insulina, obesidad y el síndrome metabólico, así como de diversos cánceres. La deficiencia, que conduce a raquitismo en niños y osteomalacia en adultos, aún es un problema en latitudes del Norte, donde la exposición a la luz solar es inadecuada.

La vitamina D se sintetiza en la piel

El 7-dehidrocolesterol (un intermediario en la síntesis de colesterol que se acumula en la piel) pasa por una reacción no enzimática en el momento de la exposición a luz ultravioleta, lo que da previtamina D (**figura 44-3**). Esta última pasa por una reacción adicional en un periodo de horas para formar colecalciferol, que se absorbe hacia el torrente sanguíneo. En climas templados, la concentración plasmática de vitamina D es más alta al final del verano, y más baja al final del invierno. Más allá de latitudes alrededor de 40° norte o sur hay muy poca radiación ultravioleta de la longitud de onda apropiada durante el invierno.

La vitamina D se metaboliza hacia el metabolito activo, calcitriol, en el hígado y los riñones

El colecalciferol, sea sintetizado en la piel o proveniente de los alimentos, pasa por dos hidroxilaciones para dar el metabolito activo, 1,25-dihidroxivitamina D o calcitriol (**figura 44-4**). El ergocalciferol proveniente de alimentos enriquecidos pasa por hidroxilación similar para dar ercalcitriol. En el hígado, el colecalciferol se hidroxila para formar el derivado 25-hidroxi, calcidiol, el cual se libera hacia la circulación unido a una globulina de unión a vitamina D, que es la principal forma de almacenamiento de la vitamina. En los riñones, el calcidiol pasa por 1-hidroxilación para producir el metabolito activo 1,25-dihidroxivitamina D (calcitriol), o 24-hidroxilación para originar un metabolito probablemente inactivo, la 24,25-dihidroxivitamina D (24-hidroxicalcidiol).

CUADRO 44–5 Las vitaminas

Vitaminas		Funciones	Enfermedad por deficiencia
Liposolubles			
A	Retinol, β-caroteno	Pigmentos visuales en la retina; regulación de la expresión de gen y de la diferenciación celular (el β-caroteno es un antioxidante)	Ceguera nocturna, xeroftalmía; queratinización de la piel
D	Calciferol	Mantenimiento del equilibrio del calcio; aumenta la absorción intestinal de Ca^{2+} y moviliza el mineral óseo; regulación de la expresión de gen y de la diferenciación celular	Raquitismo = mineralización inadecuada de hueso; osteomalacia = desmineralización ósea
E	Tocoferoles, tocotrienoles	Antioxidante, especialmente en membranas celulares; papeles en la emisión de señales celulares	En extremo rara —disfunción neurológica grave
K	Filoquinona: menaquinonas	Coenzima en la formación de γ-carboxiglutamato en enzimas de la coagulación de la sangre y de la matriz ósea	Alteración de la coagulación de la sangre, enfermedad hemorrágica
Hidrosolubles			
B_1	Tiamina	Coenzima en las piruvato y α-cetoglutarato deshidrogenasas y la transcetolasa; regula el canal de Cl^- en la conducción nerviosa	Daño de nervios periféricos (beriberi) o lesiones en el sistema nervioso central (síndrome de Wernicke-Korsakoff)
B_2	Riboflavina	Coenzima en reacciones de oxidación y reducción (FAD y FMN); grupo prostético de flavoproteínas	Lesiones de los ángulos de la boca, los labios y la lengua, dermatitis seborreica
Niacina	Ácido nicotínico, nicotinamida	Coenzima en reacciones de oxidación y reducción, parte funcional del NAD y el NADP; papel en la regulación de calcio intracelular y la emisión de señales celulares	Pelagra —dermatitis fotosensible, psicosis depresiva
B_6	Piridoxina, piridoxal, piridoxamina	Coenzima en la transaminación y la descarboxilación de aminoácidos y glucógeno fosforilasa; modulación de la acción de hormona esteroide	Trastornos del metabolismo de aminoácidos, convulsiones
	Ácido fólico	Coenzima en la transferencia de fragmentos de un carbono	Anemia megaloblástica
B_{12}	Cobalamina	Coenzima en la transferencia de fragmentos de un carbono y el metabolismo del ácido fólico	Anemia perniciosa = anemia megaloblástica con degeneración de la médula espinal
	Ácido pantoténico	Parte funcional de la CoA y de la proteína transportadora de acilo; síntesis de ácidos grasos y metabolismo de los mismos	Daño de nervio periférico (melalgia nutricional o "síndrome del pie urente")
H	Biotina	Coenzima en reacciones de carboxilación en la gluconeogénesis y la síntesis de ácidos grasos; papel en la regulación del ciclo celular	Alteración del metabolismo de grasas y carbohidratos, dermatitis
C	Ácido ascórbico	Coenzima en la hidroxilación de prolina y lisina en la síntesis de colágeno; antioxidante; aumenta la absorción de hierro	Escorbuto —alteración de la cicatrización de heridas, pérdida del cemento dental, hemorragia subcutánea

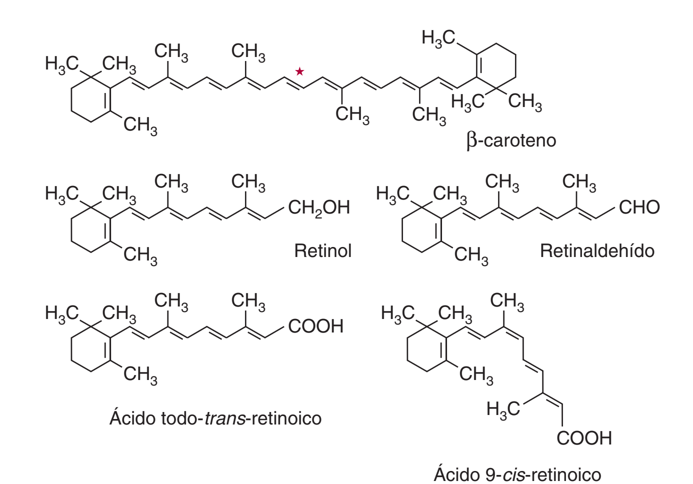


FIGURA 44–1 β-caroteno y los principales vitámeros de la vitamina A. El asterisco muestra el sitio de división del β-caroteno por la caroteno dioxigenasa, para dar retinaldehído.

El metabolismo de la vitamina D está regulado por la homeostasis del calcio y, a su vez, la regula

La principal función de la vitamina D yace en el control de la homeostasis del calcio y, a su vez, el metabolismo de la vitamina D está regulado por factores que muestran respuesta a las cifras plasmáticas de calcio y fosfato. El calcitriol actúa para reducir su propia síntesis al inducir la 24-hidroxilasa y reprimir la 1-hidroxilasa en los riñones. La principal función de la vitamina D es mantener la concentración plasmática de calcio. El calcitriol logra esto de tres maneras: incrementa la absorción intestinal de calcio; disminuye la excreción de calcio (al estimular la resorción en los túbulos renales distales) y moviliza mineral óseo. Además, el calcitriol participa en la secreción de insulina, la síntesis y secreción de hormonas paratiroidea y tiroidea, la inhibición de la producción de interleucina por linfocitos T activados y de inmunoglobulina por linfocitos B activados, la diferenciación de células precursoras de monocitos y la modulación de la proliferación celular. En casi todas estas acciones actúa como

FIGURA 44–2 La función del retinaldehído en el ciclo visual.

una hormona esteroide, al unirse a receptores nucleares y aumentar la expresión de gen, aunque también tiene efectos rápidos sobre transportadores de calcio en la mucosa intestinal. En el capítulo 47 se presentan más detalles de la participación del calcitriol en la homeostasis del calcio.

La ingesta más alta de vitamina D puede ser beneficiosa

Cada vez hay más evidencia de que el estado más alto en cuanto a vitamina D es protector contra diversos cánceres, entre ellos cánceres de próstata y colorrectal, y contra prediabetes y el síndrome metabólico. Las magnitudes deseables de consumo tal vez sean considerablemente más altas que la ingesta de referencia actual y ciertamente es muy factible que no sea posible satisfacerlas a partir de alimentos no enriquecidos. Si bien la exposición aumentada a la luz solar satisfaría la necesidad, esto conlleva el riesgo de aparición de cáncer cutáneo.

La deficiencia de vitamina D afecta a niños y adultos

En el estado de deficiencia de vitamina D, **raquitismo**, los huesos de los niños tienen mineralización insuficiente como resultado de absorción inadecuada de calcio. Suceden problemas similares como resultado de deficiencia durante el brote de crecimiento propio de la adolescencia. La **osteomalacia** en adultos se produce por la desmineralización de hueso, especialmente en mujeres que tienen poca exposición a la luz solar, en particular luego de varios embarazos. Aun cuando la vitamina D es esencial para la prevención y el tratamiento de osteomalacia en ancianos, hay poca evidencia de que sea beneficiosa en el tratamiento de **osteoporosis**.

El exceso de vitamina D es tóxico

Algunos lactantes son sensibles a ingestiones de vitamina D de apenas 50 µg/día, lo que produce cifras plasmáticas altas de calcio. Esto puede llevar a contracción de vasos sanguíneos, presión arterial alta y **calcinosis**, la calcificación de tejidos blandos. Si bien el exceso de vitamina D en la dieta es tóxico, la exposición excesiva a la luz solar no da pie a intoxicación por vitamina D, porque hay una capacidad limitada para formar el precursor, 7-dehidrocolesterol, y la exposición prolongada de la previtamina D a la luz solar lleva a la formación de compuestos inactivos.

LA VITAMINA E NO TIENE UNA FUNCIÓN METABÓLICA DEFINIDA CON PRECISIÓN

No se ha definido una función singular inequívoca para la vitamina E. Actúa como un **antioxidante** liposoluble en membranas celulares, donde muchas de sus funciones pueden ser proporcionadas por antioxidantes sintéticos, y tiene importancia en el

FIGURA 44–3 La síntesis de vitamina D en la piel.

FIGURA 44–4 **Metabolismo de la vitamina D.**

mantenimiento de la fluidez de las membranas celulares. También tiene una participación (hasta cierto punto poco definida) en la emisión de señales celulares. Vitamina E es el término descriptivo genérico para dos familias de compuestos, los **tocoferoles** y los **tocotrienoles** (**figura 44-5**). Los diferentes vitámeros tienen distinta potencia biológica; el más activo es el D-α-tocoferol, y es usual expresar la ingestión de vitamina E en términos de miligramos de equivalentes de D-α-tocoferol. El tocoferol DL-α-sintético no tiene la misma potencia biológica que el compuesto natural.

La vitamina E es el principal antioxidante liposoluble en membranas celulares y lipoproteínas plasmáticas

La principal función de la vitamina E es como un antioxidante que rompe cadenas y que atrapa radicales libres en membranas celulares y lipoproteínas plasmáticas al reaccionar con los radicales peróxido lípido formados por peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados (cap. 45). El producto radical tocoferoxilo es relativamente no reactivo, y finalmente forma compuestos no radicales. Por lo común el radical tocoferoxilo se reduce de regreso hacia tocoferol mediante reacción con vitamina C proveniente del plasma (**figura 44-6**). El radical monodesoxiascorbato resultante después pasa por reacción enzimática o no enzimática para dar ascorbato y dehidroascorbato, ninguno de los cuales es un radical.

FIGURA 44–5 **Vitámeros de la vitamina E.** En el α-tocoferol y el tocotrienol R_1, R_2 y R_3 son grupos —CH_3. En los β-vitámeros R_2 es H, en los γ-vitámeros R_1, es H, y en los δ-vitámeros tanto R_1 como R_2 son H.

Deficiencia de vitamina E

En animales de experimentación, la deficiencia de vitamina E ocasiona resorción de fetos y atrofia testicular. La deficiencia de vitamina E en la dieta en seres humanos se desconoce, aunque los pacientes con malabsorción grave de grasas, fibrosis quística y algunas formas de enfermedad crónica del hígado sufren deficiencia porque son incapaces de absorber la vitamina o de transportarla, y muestran daño de membrana de nervios y músculos. Los prematuros nacen con reservas inadecuadas de la vitamina. Las membranas de los eritrocitos son anormalmente frágiles como resultado de peroxidación de lípidos, lo que conduce a anemia hemolítica.

LA VITAMINA K SE REQUIERE PARA LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS DE COAGULACIÓN DE LA SANGRE

La vitamina K se descubrió como resultado de investigaciones sobre la causa de un trastorno hemorrágico, la enfermedad hemorrágica (por trébol de olor) del ganado vacuno y de pollos alimentados con una dieta sin grasa. El factor faltante en la dieta de los pollos fue la vitamina K, mientras que el alimento del ganado vacuno contenía **dicumarol**, un antagonista de la vitamina. Los antagonistas de la vitamina K se usan para reducir la coagulación de la sangre en quienes tienen riesgo de trombosis; el de uso más amplio es la **warfarina**.

Tres compuestos tienen la actividad biológica de la vitamina K (**figura 44-7**): **filoquinona**, la fuente normal en la dieta, que se encuentra en verduras de color verde; **menaquinonas**, sintetizadas por las bacterias intestinales, con longitudes de cadena larga que difieren, y **menadiona** y diacetato de menadiol,

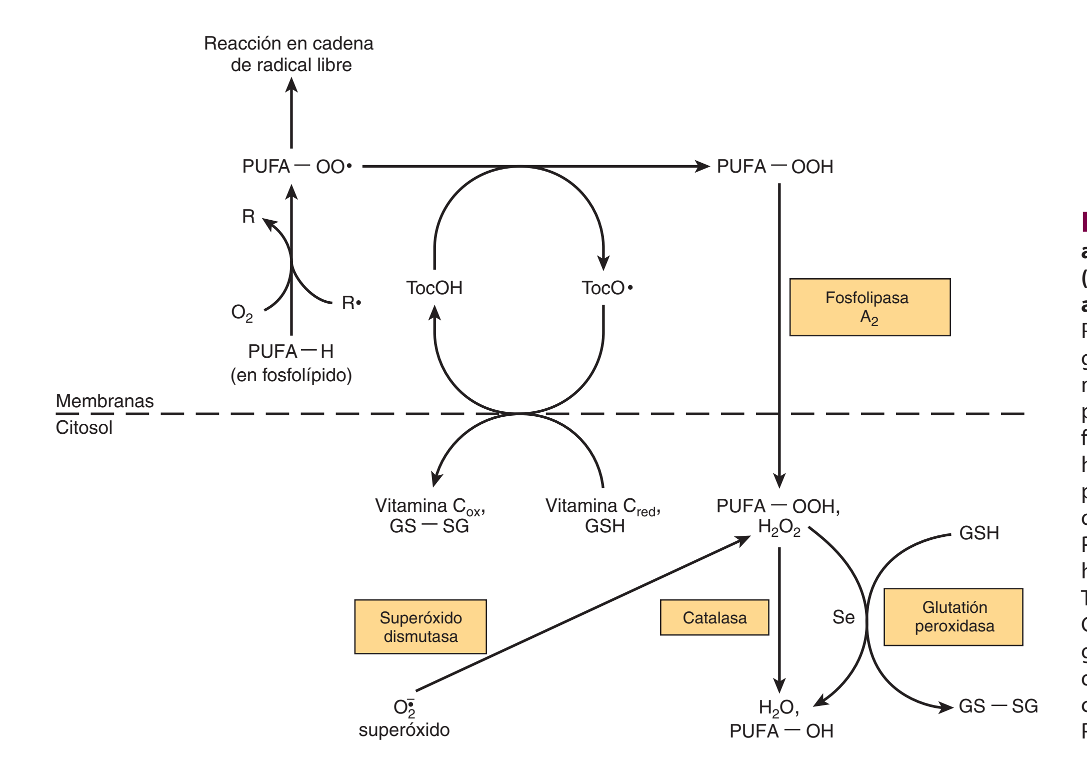


FIGURA 44–6 Interacción entre antioxidantes en la fase lípida (membranas celulares) y la fase acuosa (citosol). (R•, radical libre; PUFA-OO•, radical peroxilo de ácido graso poliinsaturado en fosfolípido de membrana; PUFA-OOH, ácido graso poliinsaturado hidroxiperoxi en fosfolípido de membrana, liberado hacia el citosol como ácido graso poliinsaturado hidroxiperoxi por medio de la acción de la fosfolipasa A_2; PUFA-OH, ácido graso poliinsaturado hidroxi; TocOH, vitamina E α-tocoferol; TocO•, radical tocoferoxilo; Se, selenio; GSH, glutatión reducido; GS-SG, glutatión oxidado, que se reduce a GSH después de reacción con NADPH, catalizada por la glutatión reductasa; PUFA-H, ácido graso poliinsaturado.)

compuestos sintéticos que pueden metabolizarse hacia filoquinona. Las menaquinonas se absorben hasta cierto grado, pero no está claro hasta qué punto tienen actividad biológica dado que es posible inducir signos de deficiencia de vitamina K simplemente al suministrar una dieta con deficiencia de filoquinona, sin inhibir la acción bacteriana intestinal.

Filoquinona

Menaquinona

Menadiol

Diacetato de menadiol
(acetomenaftona)

FIGURA 44–7 Los vitámeros de la vitamina K. El menadiol (o menadiona) y el diacetato de menadiol son compuestos sintéticos que se convierten en menaquinona en el hígado.

La vitamina K es la coenzima para la carboxilación de glutamato en la modificación postsintética de proteínas de unión a calcio

La vitamina K es el cofactor para la carboxilación de residuos glutamato en la modificación postsintética de proteínas para formar el aminoácido poco común γ-carboxiglutamato (Gla) (**figura 44-8**). Inicialmente, la vitamina K hidroquinona se oxida hacia el epóxido, que activa un residuo glutamato en el sustrato proteínico hacia un carbanión, que reacciona de modo no enzimático con dióxido de carbono para formar γ-carboxiglutamato. La vitamina K epóxido se reduce hacia la quinona por medio de una reductasa sensible a warfarina, y la quinona se reduce hacia la hidroquinona activa mediante la misma reductasa sensible a warfarina o una quinona reductasa insensible a warfarina. En presencia de warfarina es imposible reducir la vitamina K epóxido, pero se acumula y se excreta. Si se proporciona suficiente vitamina K (como la quinona) en la dieta, puede reducirse hacia la hidroquinona activa por medio de la enzima insensible a warfarina, y la carboxilación puede continuar, con utilización estoiquiométrica de vitamina K y excreción del epóxido. Una dosis alta de vitamina K es el antídoto para una sobredosis de warfarina.

La protrombina y varias otras proteínas del sistema de coagulación de la sangre (factores VIII, IX y X, y proteínas C y S, cap. 50) contienen, cada una, de 4 a 6 residuos γ-carboxiglutamato. El γ-carboxiglutamato produce quelación de iones de calcio y, de esta manera, permite la unión de las proteínas de la coagulación de la sangre a membranas. En la deficiencia de vitamina K, o en presencia de warfarina, se libera hacia la circulación un precursor anormal de la protrombina (preprotrombina) que

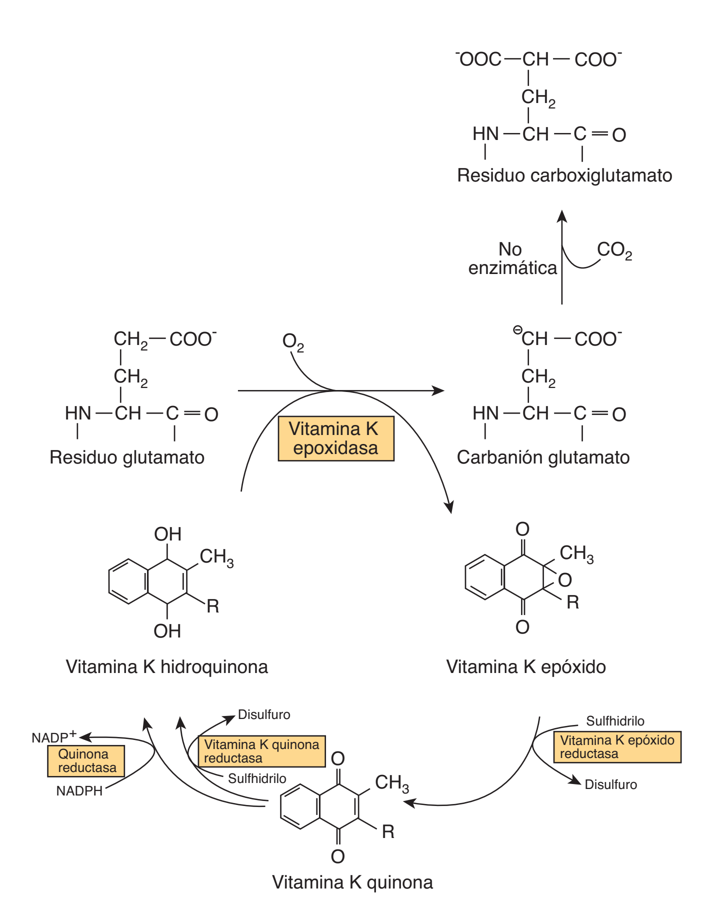


FIGURA 44–8 **Función de la vitamina K en la síntesis de γ-carboxiglutamato.**

contiene poco γ-carboxiglutamato o no lo contiene, y que es incapaz de quelar calcio.

La vitamina K también es importante en la síntesis de hueso y otras proteínas de unión a calcio

Varias otras proteínas pasan por la misma carboxilación (dependiente de vitamina K) de glutamato hacia γ-carboxiglutamato, incluso osteocalcina y la proteína Gla de la matriz en el hueso, la nefrocalcina en el riñón, y el producto del gen específico para el paro del crecimiento Gas6, que está involucrado en la regulación tanto de la diferenciación como del desarrollo del sistema nervioso, y el control de la apoptosis en otros tejidos. Todas estas proteínas que contienen γ-carboxiglutamato se unen al calcio, lo que causa un cambio conformacional de modo que interactúan con fosfolípidos de membrana. La liberación de osteocalcina hacia la circulación proporciona un índice del estado en cuanto a vitamina D.

VITAMINAS HIDROSOLUBLES

LA VITAMINA B_1 (TIAMINA) TIENE UNA FUNCIÓN CLAVE EN EL METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS

La **tiamina** tiene una función esencial en el metabolismo que genera energía, especialmente en el metabolismo de carbohidratos (**figura 44-9**). El **difosfato de tiamina** es la coenzima para tres complejos de múltiples enzimas que catalizan reacciones de descarboxilación oxidativa: piruvato deshidrogenasa en el metabolismo de carbohidratos (cap. 17); α-cetoglutarato deshidrogenasa en el ciclo del ácido cítrico (cap. 17), y la cetoácido de cadena ramificada deshidrogenasa que participa en el metabolismo de la leucina, isoleucina y valina (cap. 29). En cada caso, el difosfato de tiamina proporciona un carbono reactivo en la parte triazol que forma un carbanión, que luego se agrega al grupo carbonilo, por ejemplo, piruvato. El compuesto añadido a continuación se descarboxila, con lo que se elimina CO_2. El difosfato de tiamina también es la coenzima para la transcetolasa, en la vía de la pentosa fosfato (cap. 21).

El trifosfato de tiamina participa en la conducción nerviosa; fosforila y, de esta manera, activa, un canal de cloruro en la membrana del nervio.

La deficiencia de tiamina afecta el sistema nervioso y el corazón

La deficiencia de tiamina puede dar por resultado tres síndromes: una neuritis periférica crónica, el **beriberi**, que puede o no mostrar vínculo con **insuficiencia cardiaca** y **edema**; beriberi pernicioso agudo (fulminante) (beriberi cardiovascular agudo [shoshin-beriberi]), en el cual predominan la insuficiencia cardiaca y anormalidades metabólicas, sin neuritis periférica, y **encefalopatía de Wernicke** con **psicosis de Korsakoff**, que se relacionan en particular con el abuso del consumo de alcohol y narcóticos. La función del difosfato de tiamina en la piruvato deshidrogenasa significa que cuando hay deficiencia se observa conversión alterada de piruvato en acetil CoA. En sujetos que consumen una dieta con contenido relativamente alto de carbohidratos, esto origina incremento de las concentraciones plasmáticas de lactato y piruvato, lo cual puede causar **acidosis láctica** que pone en peligro la vida.

El estado nutricional en cuanto a tiamina puede evaluarse mediante la activación de la transcetolasa de eritrocitos

La activación de la apo-transcetolasa (la proteína enzima) en lisado de eritrocito por medio de difosfato de tiamina añadido *in*

Tiamina — Difosfato de tiamina — Carbanión

FIGURA 44–9 **Tiamina, difosfato de tiamina y la forma carbanión.**

FIGURA 44–10 **Riboflavina y las coenzimas flavín mononucleótido (FMN) y flavín adenina dinucleótido (FAD).**

vitro se ha convertido en el índice aceptado del estado nutricional en cuanto a tiamina.

LA VITAMINA B_2 (RIBOFLAVINA) TIENE UNA PARTICIPACIÓN FUNDAMENTAL EN EL METABOLISMO QUE GENERA ENERGÍA

La riboflavina proporciona las porciones reactivas de las coenzimas **flavín mononucleótido** (**FMN**) y el **flavín adenina dinucleótido** (**FAD**) (**figura 44-10**). El FMN se forma mediante fosforilación de riboflavina dependiente de ATP, mientras que el FAD se sintetiza por medio de reacción adicional con ATP en la cual su porción AMP se transfiere a FMN. Las principales fuentes de riboflavina en la dieta son la leche y los productos lácteos. Además, debido a su intenso color amarillo, la riboflavina se utiliza ampliamente como un aditivo de alimentos.

Las coenzimas de flavina son acarreadores de electrones en reacciones de oxidorreducción

Incluyen la cadena respiratoria mitocondrial, enzimas clave en la oxidación de ácidos grasos y aminoácidos, y el ciclo del ácido cítrico. La reoxidación de la flavina reducida en oxigenasas y oxidasas de función mixta procede mediante la formación del radical flavina, y flavín hidroperóxido, con la generación intermedia de radicales superóxido y perhidroxilo, y peróxido de hidrógeno. Debido a esto, las flavín oxidasas hacen una contribución importante al estrés oxidante total en el cuerpo (cap. 45).

La deficiencia de riboflavina está difundida pero no es mortal

Aun cuando la riboflavina tiene una participación fundamental en el metabolismo de lípidos y carbohidratos, y su deficiencia ocurre en muchos países, no es mortal, porque hay conservación muy eficiente de la riboflavina hística. La riboflavina liberada por el metabolismo de enzimas se incorpora con rapidez hacia enzimas recién sintetizadas. La deficiencia se caracteriza por queilosis, descamación e inflamación de la lengua, y una dermatitis seborreica. El estado nutricional en cuanto a riboflavina se evalúa al medir la activación de la glutatión reductasa de los eritrocitos por FAD añadido *in vitro.*

LA NIACINA NO ES ESTRICTAMENTE UNA VITAMINA

La niacina se descubrió como un nutriente durante estudios de **pelagra**. No es estrictamente una vitamina porque puede sintetizarse en el organismo a partir del aminoácido esencial triptófano. Dos compuestos, el **ácido nicotínico** y la **nicotinamida**, tienen la actividad biológica de niacina; su función metabólica es como el anillo nicotinamida de las coenzimas **NAD** y **NADP** en reacciones de oxidación/reducción (**figura 44-11**). Unos 60 mg de triptófano equivalen a 1 mg de niacina en la dieta. El contenido de niacina de los alimentos se expresa como:

Miligramos de equivalentes de niacina = miligramos de niacina preformada + 1/60 × miligramo de triptófano

Debido a que la mayor parte de la niacina en cereales no está disponible biológicamente, no se toma en cuenta.

El NAD es la fuente de ADP-ribosa

Además de su función como coenzima, el NAD es la fuente de ADP-ribosa para la **ADP-ribosilación** de proteínas y poliADP-ribosilación de nucleoproteínas involucradas en el **mecanismo de reparación de DNA**. El ADP-ribosa cíclico y el ácido nicotínico adenina dinucleótido, que se forma a partir de NAD, actúan para aumentar el calcio intracelular en respuesta a neurotransmisores y hormonas.

La pelagra se produce por deficiencia de triptófano y niacina

La pelagra se caracteriza por una dermatitis fotosensible. Conforme progresa la enfermedad, hay demencia y posiblemente

FIGURA 44–11 **Niacina (ácido nicotínico y nicotinamida).**

diarrea. La pelagra no tratada es mortal. Si bien la causa nutricional de la pelagra se encuentra bien establecida, y el triptófano o la niacina evita la enfermedad o la cura, pueden tener importancia otros factores, entre ellos la deficiencia de riboflavina o vitamina B_6, ambas necesarias para la síntesis de nicotinamida a partir del triptófano. En casi todos los brotes de pelagra, el número de mujeres afectadas es dos veces mayor que el de varones, probablemente como resultado de inhibición del metabolismo del triptófano por metabolitos de estrógeno.

La pelagra puede ocurrir como enfermedad a pesar de una ingestión adecuada de triptófano y niacina

Varias enfermedades genéticas que producen defectos del metabolismo del triptófano muestran vínculo con la aparición de pelagra, pese a una ingestión al parecer normal tanto de triptófano como de niacina. La **enfermedad de Hartnup** es un padecimiento genético raro en el cual hay un defecto del mecanismo de transporte de membrana para el triptófano, lo que ocasiona pérdidas grandes por malabsorción intestinal y fracaso del mecanismo de resorción renal. En el **síndrome carcinoide** hay metástasis de un tumor hepático primario de células enterocromafines, que sintetizan 5-hidroxitriptamina. La producción excesiva de 5-hidroxitriptamina puede explicar hasta 60% del metabolismo de triptófano en el cuerpo, y causa pelagra debido a desviación en dirección contraria a la síntesis de NAD.

El exceso de niacina es tóxico

El ácido nicotínico se ha usado para tratar hiperlipidemia, cuando se requiere del orden de 1 a 6 g/día, lo que da por resultado dilatación de vasos sanguíneos y rubor, junto con irritación de la piel. La ingestión tanto de ácido nicotínico como de nicotinamida de más de 500 mg/día también origina daño hepático.

LA VITAMINA B_6 ES IMPORTANTE EN EL METABOLISMO DE AMINOÁCIDOS Y GLUCÓGENO, Y EN LA ACCIÓN DE HORMONA ESTEROIDE

Seis compuestos tienen una actividad de vitamina B_6 (**figura 44-12**): **piridoxina**, **piridoxal**, **piridoxamina** y sus 5′-fosfatos. La coenzima activa es el piridoxal 5′-fosfato. Alrededor de 80% de la vitamina B_6 total del organismo es fosfato de piridoxal en el músculo, en su mayor parte relacionado con glucógeno fosforilasa. Esto no se encuentra disponible cuando existe deficiencia, pero se libera en presencia de inanición, cuando las reservas de glucógeno quedan agotadas, y entonces está disponible, especialmente en el hígado y los riñones, para satisfacer el requerimiento incrementado de gluconeogénesis a partir de aminoácidos.

La vitamina B_6 tiene varias funciones en el metabolismo

El fosfato de piridoxal es una coenzima para muchas enzimas involucradas en el metabolismo de aminoácidos, en particular transaminación y descarboxilación. Asimismo, es el cofactor de la glucógeno fosforilasa, en la cual el grupo fosfato tiene importancia desde el punto de vista catalítico. Más aún, la vitamina B_6 es importante en la acción de hormonas esteroides. El fosfato de piridoxal elimina el complejo de hormona-receptor desde unión a DNA, lo que termina la acción de las hormonas. En la deficiencia de vitamina B_6 hay aumento de la sensibilidad a las acciones de cifras bajas de estrógenos, andrógenos, cortisol y vitamina D.

FIGURA 44–12 **Interconversión de vitámeros de la vitamina B_6.**

La deficiencia de vitamina B_6 es rara

Aunque la enfermedad clínica por deficiencia es rara, hay evidencia de que una proporción importante de la población tiene un estado marginal de la vitamina B_6. La deficiencia moderada causa anormalidades del metabolismo del triptófano y la metionina. La sensibilidad incrementada a la acción de hormona esteroide puede ser importante en la aparición de **cáncer dependiente de hormona** de la mama, el útero y la próstata, y el estado en cuanto a vitamina B_6 y puede afectar el pronóstico.

El estado en cuanto a vitamina B_6 se valora por medio de evaluación de las transaminasas de eritrocito

El método que se usa más ampliamente para evaluar el estado en cuanto a vitamina B_6 es mediante la activación de transaminasas de eritrocito por medio de fosfato de piridoxal añadido *in vitro*, lo que se expresa como el coeficiente de activación.

El exceso de vitamina B_6 suscita neuropatía sensitiva

Se ha informado neuropatía sensitiva en individuos que han tomado 2 a 7 g de piridoxina al día por diversas razones (hay alguna evidencia leve de que resulta eficaz para tratar **síndrome premenstrual**). Hubo cierto daño residual después de elimina-

ción de estas dosis altas; otros informes sugieren que las ingestiones de más de 200 mg/día muestran un vínculo con daño neurológico.

LA VITAMINA B_{12} SÓLO SE ENCUENTRA EN ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

El término “vitamina B_{12}” se usa como un término descriptivo genérico para las **cobalaminas**, los **corrinoides** (compuestos que contienen cobalto y que poseen el anillo corrina) que tienen la actividad biológica de la vitamina (**figura 44-13**). Algunos corrinoides que son factores de crecimiento para microorganismos no sólo carecen de actividad de vitamina B_{12}, sino que también pueden ser antimetabolitos de la vitamina. Aun cuando se sintetiza de modo exclusivo por microorganismos, para propósitos prácticos la vitamina B_{12} sólo se encuentra en alimentos de origen animal; no hay fuentes vegetales de esta vitamina. Esto significa que los vegetarianos estrictos (veganos) tienen riesgo de presentar deficiencia de vitamina B_{12}. Las pequeñas cantidades de vitamina formadas por las bacterias sobre la superficie de frutas pueden ser adecuadas para satisfacer los requerimientos, pero se dispone de preparaciones de vitamina B_{12} fabricadas mediante fermentación bacteriana.

La absorción de vitamina B_{12} necesita dos proteínas de unión

La vitamina B_{12} se absorbe unida a **factor intrínseco**, una pequeña glucoproteína secretada por las células parietales de la mucosa gástrica. El ácido gástrico y la pepsina liberan la vitamina desde unión a proteína en los alimentos, y hacen que esté disponible para unirse a la **cobalofilina**, una proteína de unión secretada en la saliva. En el duodeno, la cobalofilina se hidroliza, lo que libera la vitamina para unión a factor intrínseco. Por ende, la **insuficiencia pancreática** puede ser un factor en la aparición de deficiencia de vitamina B_{12}, lo que produce la excreción de vitamina B_{12} unida a cobalofilina. El factor intrínseco sólo se une a los vitámeros de vitamina B_{12} activos, y no a otros corrinoides. La vitamina B_{12} se absorbe a partir del tercio distal del íleon por medio de receptores que se unen al complejo de vitamina B_{12}-factor intrínseco, pero no al factor intrínseco libre ni a la vitamina libre.

FIGURA 44–13 **Vitamina B_{12}.** Cuatro sitios de coordinación en el átomo de cobalto central son quelados por los átomos de nitrógeno del anillo corrina, y uno por el nitrógeno del nucleótido dimetilbenzimidazol. El sexto sitio de coordinación puede estar ocupado por: CN^- (cianocobalamina), OH^- (hidroxocobalamina), H_2O acuocobalamina, —CH_3 (metil cobalamina) o 5′-desoxiadenosina (adenosilcobalamina).

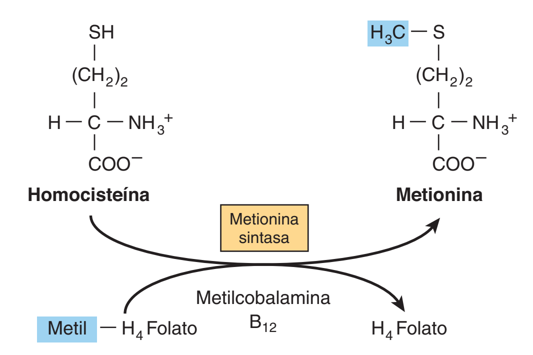


FIGURA 44–14 **Homocisteína y la “trampa de folato”.** La deficiencia de vitamina B_{12} conduce a deterioro de la metionina sintasa, lo que produce acumulación de homocisteína y atrapamiento de folato como metiltetrahidrofolato.

Hay tres enzimas dependientes de vitamina B_{12}

La **metilmalonil CoA mutasa**, **leucina aminomutasa**, y **metionina sintasa** (**figura 44-14**) son enzimas dependientes de la vitamina B_{12}. La metilmalonil CoA se forma como un intermediario en el catabolismo de la valina y mediante la carboxilación de propionil CoA que surge en el catabolismo de la isoleucina, el colesterol y, rara vez, ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono o de manera directa a partir del propionato, un producto importante de la fermentación microbiana en el rumen. Pasa por un reordenamiento (dependiente de vitamina B_{12}) hacia succinil CoA, catalizado por la metilmalonil CoA mutasa (figura 20-2). La actividad de esta enzima se encuentra muy reducida en la deficiencia de vitamina B_{12}, lo que da pie a una acumulación de metilmalonil CoA y excreción urinaria de ácido metilmalónico, que proporciona un medio de evaluar el estado nutricional en cuanto a vitamina B_{12}.

La deficiencia de vitamina B_{12} ocasiona anemia perniciosa

La anemia perniciosa surge cuando la deficiencia de vitamina B_{12} altera el metabolismo del ácido fólico, lo que lleva a deficiencia de folato funcional que altera la eritropoyesis, y hace que se liberen precursores inmaduros de eritrocitos hacia la circulación (anemia megaloblástica). La causa más frecuente de la anemia perniciosa es el fracaso de la absorción de vitamina B_{12} más que deficiencia en la dieta. Esto puede ser el resultado del fraca-

FIGURA 44–15 **Ácido tetrahidrofólico y los folatos sustituidos de un carbono.**

so de la secreción de factor intrínseco causado por enfermedad autoinmunitaria que afecta las células parietales, o por producción de anticuerpos antifactor intrínseco. En la anemia perniciosa hay degeneración irreversible de la médula espinal como resultado de fracaso de la metilación de un residuo arginina sobre la proteína básica de mielina. Esto es el resultado de deficiencia de metionina en el sistema nervioso central, más que de deficiencia de folato secundaria.

HAY MÚLTIPLES FORMAS DE FOLATO EN LA DIETA

La forma activa del ácido fólico (pteroil glutamato) es el tetrahidrofolato (**figura 44-15**). Los folatos en los alimentos pueden tener hasta siete residuos glutamato adicionales enlazados por medio de enlaces γ-peptídicos. Además, todos los folatos con sustitución de un carbono en la figura 44-15 también pueden estar presentes en los alimentos. El grado al cual las diferentes formas de folato pueden absorberse es variable, y las ingestiones de folato se calculan como equivalentes de folato en la dieta, la suma de microgramos de folatos en los alimentos + 1.7 por microgramos de ácido fólico (usado en el enriquecimiento de alimento).

El tetrahidrofolato es un acarreador de unidades de un carbono

El tetrahidrofolato puede acarrear fragmentos de un carbono fijos a *N*-5 (grupos formilo, formimino o metilo), *N*-10 (formilo) o formación de puente *N*-5-*N*-10 (grupo metileno o metenil). El 5-formil-tetrahidrofolato es más estable que el folato, y, por consiguiente, es objeto de uso farmacéutico (conocido como **ácido folínico**), y el compuesto sintético (racémico) (**leucovorín**). El principal punto de entrada para fragmentos de un carbono hacia folatos sustituidos es el metileno-tetrahidrofolato (**figura 44-16**), que se forma por medio de la reacción de glicina, serina y colina con tetrahidrofolato. La serina es la fuente de mayor importancia de folatos sustituidos para reacciones gliosintéticas, y la actividad de la serina hidroximetiltransferasa está regulada por el estado de sustitución de folato y la disponibilidad de este último. La reacción es reversible, y en el hígado puede formar serina a partir de glicina como un sustrato para la gluconeogénesis. Los metileno-, metenil- y 10-formil-tetrahidrofolatos son interconvertibles. Cuando no se requieren folatos de un carbono, la oxidación de formil-tetrahidrofolato para dar dióxido de carbono proporciona un medio para mantener un fondo común de folato libre.

Los inhibidores del metabolismo de folato proporcionan fármacos para quimioterapia de cáncer, antibacterianos y antipalúdicos

La metilación de desoxiuridina monofosfato (dUMP) hacia timidina monofosfato (TMP), catalizada por timidilato sintasa, es esencial para la síntesis de DNA. El fragmento de un carbono del metileno-tetrahidrofolato se reduce hacia un grupo metilo, con liberación de dihidrofolato, que a continuación es reducido de regreso a tetrahidrofolato por la **dihidrofolato reductasa**. La timidilato sintasa y la dihidrofolato reductasa son en especial activas en tejidos que tienen un índice alto de división celular. El **metotrexato**, un análogo del 10-metil-tetrahidrofolato, inhibe la dihidrofolato reductasa, y se ha explotado como un medicamento anticáncer. Las dihidrofolato reductasas de algunas bacterias

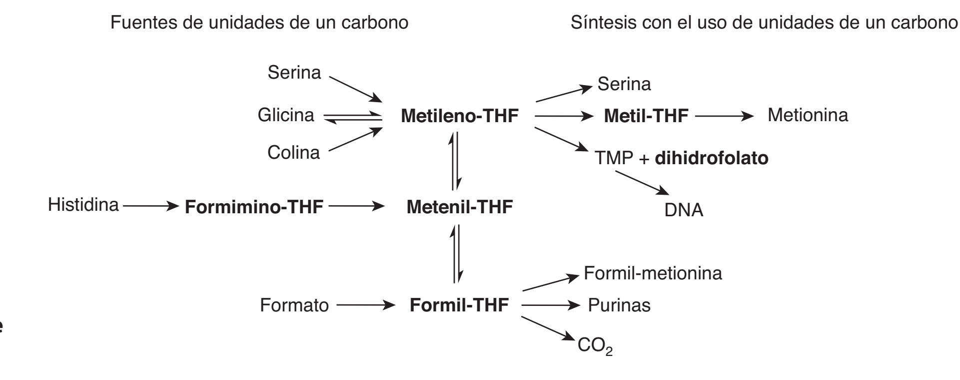


FIGURA 44–16 **Fuentes y utilización de folatos sustituidos de un carbono.**

y parásitos difieren de la enzima del ser humano; los inhibidores de estas enzimas pueden emplearse como antibacterianos (p. ej., **trimetoprim**) y antipalúdicos (p. ej., **pirimetamina**).

La deficiencia de vitamina B_{12} da por resultado deficiencia de folato funcional: la "trampa de folato"

Cuando actúa como un donador de metilo, la *S*-adenosil metionina forma homocisteína, la que puede ser remetilada por el metil-tetrahidrofolato, lo cual es catalizado por la metionina sintasa, una enzima dependiente de vitamina B_{12} (figura 44-14). Puesto que la reducción de metileno-tetrahidrofolato hacia metil-tetrahidrofolato es irreversible y la principal fuente de tetrahidrofolato para los tejidos es el metil-tetrahidrofolato, la función de la metionina sintasa es vital, y proporciona un enlace entre las funciones del folato y la vitamina B_{12}. El deterioro de la metionina sintasa en la deficiencia de vitamina B_{12} origina la acumulación de metiltetrahidrofolato: la "trampa de folato". Por tanto, hay deficiencia funcional de folato, consecutiva a deficiencia de vitamina B_{12}.

La deficiencia de folato causa anemia megaloblástica

La deficiencia de ácido fólico en sí, o la deficiencia de vitamina B_{12}, que conduce a deficiencia de ácido fólico funcional, afecta a las células que se están dividiendo con rapidez porque tienen un requerimiento grande de timidina para la síntesis de DNA. En clínica, esto afecta a la médula ósea, lo que da pie a anemia megaloblástica.

Los complementos de ácido fólico disminuyen el riesgo de defectos del tubo neural y de hiperhomocisteinemia, y pueden aminorar la incidencia de enfermedad cardiovascular y algunos cánceres

Los complementos de 400 μg/día de folato iniciados antes de la concepción suscitan reducción importante de la incidencia de **espina bífida** y otros defectos del **tubo neural**. Debido a esto, en muchos países es obligatorio el enriquecimiento de la harina con ácido fólico. La homocisteína alta en sangre es un factor de riesgo importante para **aterosclerosis**, **trombosis** e **hipertensión**. El estado depende de alteración de la capacidad para formar metiltetrahidrofolato por medio de la metileno-tetrahidrofolato reductasa, lo que produce deficiencia de folato funcional, y ocasiona fracaso para volver a metilar la homocisteína hacia metionina. Quienes tienen una variante anormal de la metileno-tetrahidrofolato reductasa, que ocurre en 5 a 10% de la población, no presentan hiperhomocisteinemia si tienen una ingestión relativamente alta de folato. Varios estudios controlados con placebo de complementos de folato (comúnmente junto con vitaminas B_6 y B_{12}) han mostrado la disminución esperada de homocisteína plasmática, pero además de incidencia reducida de apoplejía no se ha observado efecto sobre enfermedad cardiovascular.

Asimismo, hay evidencia de que el estado bajo en cuanto a folato da lugar a metilación alterada de islas de CpG en el DNA, que es un factor en la aparición de cáncer colorrectal y de otros cánceres. Varios estudios sugieren que los complementos de folato o el enriquecimiento de alimentos con folato pueden disminuir el riesgo de aparición de algunos cánceres. Sin embargo, hay alguna evidencia de que los complementos de folato aumentan la tasa de transformación de pólipos colorrectales paraneoplásicos hacia cánceres, de modo que en personas que presentan ese tipo de pólipos hay aumento del riesgo de aparición de cáncer colorrectal si tienen una ingestión alta de folato.

El enriquecimiento de alimentos con folato puede colocar a algunas personas en riesgo

Los complementos de folato rectificarán la anemia megaloblástica propia de la deficiencia de vitamina B_{12}, pero pueden acelerar la aparición del daño nervioso (irreversible) que se encuentra en la deficiencia de vitamina B_{12}. También hay antagonismo entre el ácido fólico y los anticonvulsivos que se usan en el tratamiento de la epilepsia y, como se mencionó, hay cierta evidencia de que los complementos de folato pueden aumentar el riesgo de aparición de cáncer colorrectal entre personas que tienen pólipos colorrectales preneoplásicos.

LA DEFICIENCIA DE BIOTINA EN LA DIETA SE DESCONOCE

En la **figura 44-17** se muestran las estructuras de la biotina, biocitina y carboxibiotina (el intermediario metabólico activo). La biotina se encuentra ampliamente distribuida en muchos alimentos como biocitina (ε-amino-biotinilisina), que se libera en el momento de proteólisis. Es sintetizada por la flora intestinal en cantidades que exceden los requerimientos. La deficiencia se desconoce, excepto entre personas mantenidas durante muchos meses en nutrición parenteral total, y en un número muy peque-

FIGURA 44–17 **Biotina, biocitina y carboxi-biocitina.**

ño de personas que comen cantidades anormalmente grandes de clara de huevo cruda, que contiene avidina, una proteína que se une a la biotina y hace que no esté disponible para absorción.

La biotina es una coenzima de las enzimas carboxilasa

La biotina funciona para transferir dióxido de carbono en un pequeño número de reacciones: acetil-CoA carboxilasa (figura 23-1), piruvato carboxilasa (figura 20-1), propionil-CoA carboxilasa (figura 20-2) y metilcrotonil-CoA carboxilasa. Una holocarboxilasa sintetasa cataliza la transferencia de biotina hacia un residuo lisina de la apoenzima para formar el residuo biocitina de la holoenzima. El intermediario reactivo es la 1-*N*-carboxi-biocitina, que se forma a partir de bicarbonato en una reacción dependiente de ATP. El grupo carboxilo a continuación se transfiere hacia el sustrato para carboxilación.

Asimismo, la biotina participa en la regulación del ciclo celular; actúa para la biotinilación de las proteínas nucleares clave.

COMO PARTE DE LA CoA Y DE LA PROTEÍNA ACARREADORA DE ACILO (ACP), EL ÁCIDO PANTOTÉNICO ACTÚA COMO UN ACARREADOR DE GRUPOS ACILO

El ácido pantoténico tiene una participación fundamental en el metabolismo del grupo acilo cuando actúa como la parte funcional panteteína de la coenzima A o de la ACP (**figura 44-18**). La porción panteteína se forma luego de combinación de pantotenato con cisteína, que proporciona el grupo prostético-SH de la CoA y la ACP. La CoA participa en reacciones del ciclo del ácido cítrico (cap. 17), la oxidación de ácido graso (cap. 22), acetilaciones y síntesis de colesterol (cap. 26). La ACP participa en la síntesis de ácido graso (cap. 23). La vitamina se encuentra ampliamente distribuida en todos los productos alimenticios, y la deficiencia no se ha informado de modo inequívoco en seres humanos salvo en estudios de agotamiento específico.

Ácido pantoténico Coenzima A (CoASH)

FIGURA 44–18 Ácido pantoténico y coenzima A. El asterisco muestra el sitio de acilación por ácidos grasos.

Ascorbato Monodehidroascorbato (semidehidroascorbato) Dehidroascorbato

FIGURA 44–19 Vitamina C.

EL ÁCIDO ASCÓRBICO ES UNA VITAMINA SÓLO PARA ALGUNAS ESPECIES

La **vitamina C** (**figura 44-19**) es una vitamina para seres humanos y otros primates, los conejillos de Indias (cobayos), los murciélagos, las aves paseriformes y casi todos los peces invertebrados; otros animales la sintetizan como un intermediario en la vía del ácido urónico del metabolismo de la glucosa (figura 21-4). En las especies para las cuales es una vitamina, hay un bloqueo de la vía como resultado de la falta de la gulonolactona oxidasa. Tanto el ácido ascórbico como el ácido dehidroascórbico tienen actividad de vitamina.

La vitamina C es la coenzima para dos grupos de hidroxilasas

El ácido ascórbico tiene funciones específicas en las hidroxilasas que contienen cobre y las hidroxilasas que contienen hierro enlazadas a α-cetoglutarato. También aumenta la actividad de varias otras enzimas *in vitro,* si bien ésta no es una acción reductora inespecífica. Más aún, tiene varios efectos no enzimáticos como resultado de su acción como un agente reductor de radicales de oxígeno y que los desactiva (cap. 45).

La **dopamina β-hidroxilasa** es una enzima que contiene cobre, que participa en la síntesis de las catecolaminas (norepinefrina y epinefrina), a partir de tirosina en la médula suprarrenal y el sistema nervioso central. Durante la hidroxilación el Cu^+ se oxida hacia Cu^{2+}; la reducción de regreso hacia Cu^+ necesita de manera específica ascorbato, que se oxida hacia monodehidroascorbato.

Varias hormonas peptídicas tienen una amida carboxilo terminal que se deriva de un residuo glicina terminal. Esta glicina se hidroxila en el carbono α mediante una enzima que contiene cobre, la **peptidilglicina hidroxilasa**, que, de nuevo, requiere ascorbato para reducción de Cu^{2+}.

Varias hidroxilasas que contienen hierro, y que necesitan ascorbato, comparten un mecanismo de reacción común, en el cual la hidroxilación del sustrato está enlazada a la descarboxilación oxidativa de α-cetoglutarato. Muchas de estas enzimas participan en la modificación de proteínas precursoras. Las **prolina** y **lisina** hidroxilasas se requieren para la modificación postsintética del **procolágeno** hacia **colágeno**, y la prolina hidroxilasa también se necesita en la formación de **osteocalcina** y el componente C1q del **complemento**. La aspartato β-hidroxilasa se requiere para la modificación postsintética del precursor de la proteína C, la proteasa dependiente de vitamina K que hidroliza

el factor V activado en la cascada de coagulación de la sangre (cap. 50). La trimetil lisina y las γ-butirobetaína hidroxilasas se necesitan para la síntesis de carnitina.

La deficiencia de vitamina C da por resultado escorbuto

Los signos de deficiencia de vitamina C son cambios de la piel, fragilidad de los capilares sanguíneos, alteraciones de las encías, pérdida de dientes, y fractura de huesos, muchas de las cuales pueden atribuirse a síntesis deficiente de colágeno.

La ingestión más alta de vitamina C puede generar beneficios

A ingestiones por arriba de aproximadamente 100 mg/día, la capacidad del cuerpo para metabolizar vitamina C se satura, y cualquier ingestión adicional se excreta en la orina. Con todo, además de sus otras funciones, la vitamina C incrementa la absorción de hierro inorgánico, y esto depende de la presencia de la vitamina en el intestino. En consecuencia, las ingestiones aumentadas pueden ser beneficiosas. Hay muy poca evidencia de que las dosis altas de vitamina C prevengan el resfriado común, aunque pueden reducir la duración y la intensidad de los síntomas.

SE REQUIEREN MINERALES PARA FUNCIONES TANTO FISIOLÓGICAS COMO BIOQUÍMICAS

Muchos de los minerales esenciales (**cuadro 44-6**) están ampliamente distribuidos en los alimentos, y la mayoría de las personas que come una dieta mixta tiene probabilidades de recibir ingestiones adecuadas. Las cantidades requeridas varían desde gramos por día para el sodio y el calcio, pasando por miligramos por día (p. ej., hierro y cinc), hasta microgramos por día para los oligoelementos. En general, las deficiencias de mineral suceden cuando los alimentos provienen de una región donde puede haber escasez de algunos minerales en el suelo (p. ej., yodo y selenio, de los cuales hay pocas cantidades en muchas áreas del mundo); cuando los alimentos provienen de diversas regiones, es menos probable que ocurra deficiencia de mineral. Aun así, la deficiencia de hierro es un problema general, porque si las pérdidas de dicho mineral desde el organismo son relativamente altas (p. ej., por pérdida copiosa de sangre menstrual), es difícil lograr una ingestión adecuada para remplazar las pérdidas. Los alimentos cultivados en suelo que contiene concentraciones altas de selenio originan toxicidad, y la ingestión excesiva de sodio causa hipertensión en personas susceptibles.

CUADRO 44–6 Clasificación de los minerales de acuerdo con su función

Función	Mineral
Función estructural	Calcio, magnesio, fosfato
Involucrados en la función de membrana	Sodio, potasio
Función como grupos prostéticos en enzimas	Cobalto, cobre, hierro, molibdeno, selenio, cinc
Función reguladora o función en la acción hormonal	Calcio, cromo, yodo, magnesio, manganeso, sodio, potasio
Se sabe que son esenciales, pero se desconoce su función	Silicio, vanadio, níquel, estaño
Tienen efectos en el organismo, pero en esencia no se encuentran establecidos	Fluoruro, litio
Pueden hallarse en alimentos, y se sabe que en cantidades excesivas es tóxico	Aluminio, arsénico, antimonio, boro, bromo, cadmio, cesio, germanio, plomo, mercurio, plata, estroncio

RESUMEN

- Las vitaminas son nutrientes orgánicos con funciones metabólicas esenciales, que regularmente se necesitan en pequeñas cantidades en la dieta porque el cuerpo no puede sintetizarlas. Las vitaminas liposolubles (A, D, E y K) son moléculas hidrofóbicas cuya absorción y la evitación de deficiencia requiere absorción normal de grasa.
- La vitamina A (retinol), presente en la carne, y la provitamina (β-caroteno), que se encuentra en vegetales, forman retinaldehído, que se utiliza en la visión, y ácido retinoico, que actúa en el control de la expresión de gen.
- La vitamina D es una prohormona esteroide que da la hormona activa calcitriol, que regula el metabolismo del calcio y el fosfato; la deficiencia lleva a raquitismo y osteomalacia.
- La vitamina E (tocoferol) es el antioxidante liposoluble de mayor importancia en el organismo; actúa en la fase líquida y de membranas protegiendo contra los efectos de radicales libres.
- La vitamina K funciona como cofactor de una carboxilasa que actúa sobre residuos glutamato de proteínas precursoras de factores de la coagulación y otras proteínas óseas para permitirles quelar calcio.
- Las vitaminas hidrosolubles del complejo B actúan como cofactores de enzimas. La tiamina es un cofactor en la descarboxilación oxidativa de α-cetoácidos y de transcetolasa en la vía de la pentosa fosfato. La riboflavina y niacina son cofactores importantes en reacciones de oxidorreducción, presentes en enzimas flavoproteína y en el NAD y NADP, respectivamente.
- El ácido pantoténico está presente en la coenzima A y en la proteína acarreadora de acilo, que actúan como acarreadores para grupos acilo en reacciones metabólicas.
- La vitamina B_6 como fosfato de piridoxal es la coenzima para varias enzimas del metabolismo de aminoácidos, entre ellas las transaminasas, y de la glucógeno fosforilasa. La biotina es la coenzima para varias enzimas carboxilasa.
- La vitamina B_{12} y el folato proporcionan residuos de un carbono para la síntesis de DNA y otras reacciones; la deficiencia suscita anemia megaloblástica.
- La vitamina C es un antioxidante hidrosoluble que mantiene en el estado reducido a la vitamina E y muchos cofactores metal.

- Los elementos minerales inorgánicos que tienen una función en el cuerpo deben encontrarse en la dieta. Cuando la ingestión es insuficiente, puede aparecer deficiencia, y las ingestiones excesivas pueden ser tóxicas.

REFERENCIAS

Bender DA, Bender AE: *Nutrition: A Reference Handbook.* Oxford University Press, 1997.

Bender DA: *Nutritional Biochemistry of the Vitamins,* 2nd ed. Cambridge University Press, 2003.

Department of Health: *Dietary Reference Values for Food Energy and Nutrients for the United Kingdom.* Her Majesty's Stationery Office, 1991.

FAO/WHO: *Human Vitamin and Mineral Requirements: Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation: Bankok, Thailand.* Food and Nutrition Division of the United Nations Food and Agriculture Organization, 2000.

Geissler C, Powers HJ: *Human Nutrition,* 12th ed. Elsevier, 2010.

Gibney MJ, Lanham-New S, Cassidy A, et al: *Introduction to Human Nutrition, The Nutrition Society Textbook Series*, 2nd ed. Wiley–Blackwell, 2009.

Institute of Medicine: *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D and Fluoride*. National Academy Press, 1997.

Institute of Medicine: *Dietary Reference Values for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin and Choline*. National Academy Press, 2000.

Institute of Medicine: *Dietary Reference Values for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids*. National Academy Press, 2000.

Institute of Medicine: *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc.* National Academy Press, 2001.

Scientific Advisory Committee on Nutrition of the Food Standards Agency: *Folate and Disease Prevention.* The Stationery Office, 2006.

C A P Í T U L O

45

Radicales libres y nutrientes antioxidantes

David A. Bender, PhD

O B J E T I V O S

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir el daño causado al DNA, lípidos y proteínas por radicales libres, y las enfermedades asociadas con daño por radical.
- Describir las principales fuentes de radicales de oxígeno en el organismo.
- Identificar los mecanismos y factores de la dieta que protegen contra daño por radical.
- Explicar cómo los antioxidantes también pueden actuar como prooxidantes, y por qué los estudios de intervención de nutrientes antioxidantes en general han dado resultados desalentadores.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los radicales libres se forman en el organismo en condiciones normales. Dan por resultado daño de ácidos nucleicos, proteínas y lípidos en membranas celulares y lipoproteínas plasmáticas. Esto puede originar cáncer, aterosclerosis y enfermedad de arteria coronaria, y enfermedades autoinmunitarias. En estudios epidemiológicos y de laboratorio se han identificado varios nutrientes antioxidantes protectores: selenio, vitaminas C y E, β-caroteno, y otros carotenoides, y varios compuestos polifenólicos derivados de alimentos de origen vegetal. Muchas personas toman complementos de uno o más nutrientes antioxidantes. Sin embargo, estudios de intervención muestran poco beneficio de los complementos de antioxidantes excepto entre personas que al principio tenían deficiencia, y muchos estudios sobre el β-caroteno y la vitamina E han mostrado aumento de la mortalidad entre quienes recibieron los complementos.

Las reacciones de radicales libres son reacciones en cadena que se perpetúan por sí mismas

Los radicales libres son especies moleculares muy reactivas con un electrón no pareado; sólo persisten durante un tiempo muy breve (del orden de 10^{-9} a 10^{-12} s) antes de colisionar con otra molécula y sustraer o donar un electrón para alcanzar estabilidad. Al hacerlo, generan un nuevo radical a partir de la molécula con la cual colisionaron. El principal modo en el cual se puede desactivar un radical libre, y así poner fin a esta reacción en cadena, es si dos radicales reaccionan juntos, cuando los electrones no pareados pueden formar par en una u otra de las moléculas originales. Este suceso es raro, debido a la vida media muy breve de un radical individual y las concentraciones muy bajas de radicales en los tejidos.

Los radicales más perjudiciales en sistemas biológicos son los radicales de oxígeno (a veces denominados especies de oxígeno reactivas), en especial superóxido, $O_2^{\bullet -}$, hidroxilo, $OH^{\bullet}$, y perhidroxilo, $O_2H^{\bullet}$. El daño de tejido causado por radicales de oxígeno suele llamarse daño oxidativo, y los factores que protegen contra daño por radical de oxígeno se conocen como antioxidantes.

Los radicales pueden dañar DNA, lípidos y proteínas

La interacción de radicales con bases en el DNA puede llevar a cambios químicos que, si no se reparan (cap. 35), pueden heredarse en las células hijas. El daño por radical de ácidos grasos insaturados en membranas celulares y proteínas plasmáticas conduce a la formación de peróxidos de lípidos, y después a dialdehídos muy reactivos que pueden modificar químicamente proteínas y bases de ácidos nucleicos. Las proteínas también están sujetas a modificación química directa por interacción con radicales. El daño oxidativo de residuos tirosina en proteínas puede llevar a la formación de dihidroxifenilalanina que puede pasar por reacciones no enzimáticas que dan pie a formación adicional de radicales de oxígeno (**figura 45-1**).

La carga corporal total de radical puede estimarse al medir los productos de la peroxidación de lípidos. Los peróxidos de lípidos pueden medirse por medio de la oxidación ferrosa en valoración con naranja de xilenol (FOX). En condiciones ácidas, oxidan Fe^{2+} hacia Fe^{3+}, que forma un cromóforo con el naranja

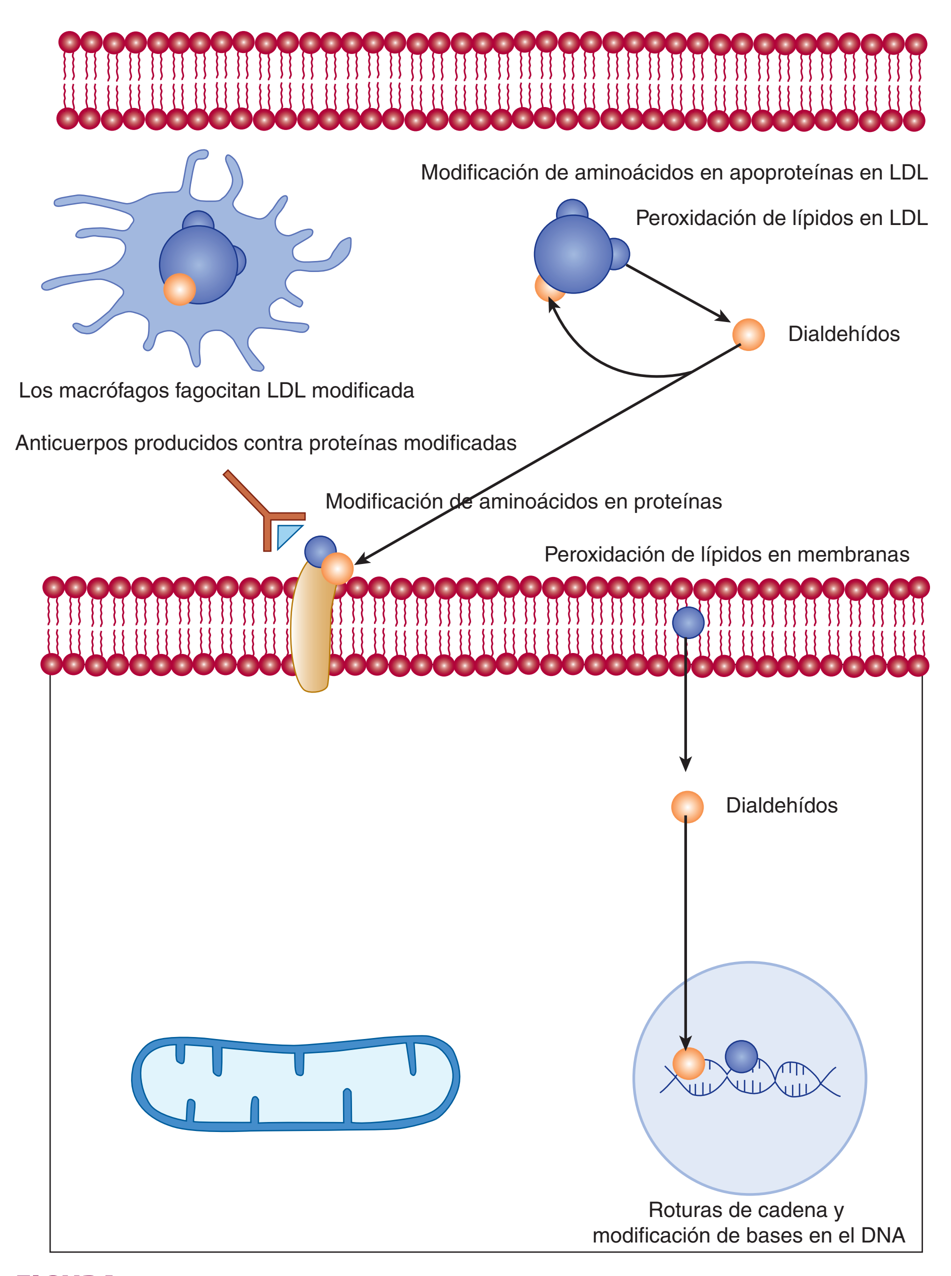


FIGURA 45–1 **Daño de tejido por radicales.**

de xilenol. Los dialdehídos formados a partir de peróxidos de lípidos pueden medirse por medio de reacción con ácido tiobarbitúrico, cuando forman un aducto fluorescente de color rojo; los resultados de esta reacción por lo general se reportan como sustancias reactivas a ácido barbitúrico totales (TBARS). La peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados *n*-6 lleva a la formación de pentano, y la de ácidos grasos poliinsaturados *n*-3 a la formación de etano; ambos pueden medirse en el aire espirado.

El daño por radicales puede suscitar mutaciones, cáncer, enfermedad autoinmunitaria y aterosclerosis

El daño del DNA por radical en células de la línea germinal en los ovarios y los testículos puede llevar a mutaciones hereditarias; en las células somáticas el resultado puede ser el inicio de cáncer. Los dialdehídos que se forman como resultado de peroxidación de lípidos inducida por radical en membranas celulares también pueden modificar bases en el DNA.

La modificación química de aminoácidos en proteínas, sea por acción directa de radical o como resultado de reacción con los productos de peroxidación de lípidos inducida por radical, conduce a proteínas que el sistema inmunitario reconoce como extrañas. Los anticuerpos resultantes también tendrán reacción cruzada con proteínas hísticas normales, de manera que se inicia enfermedad autoinmunitaria.

La modificación química de las proteínas o los lípidos en lipoproteína de baja densidad (LDL) plasmática da pie a LDL anormal que no es reconocida por los receptores de LDL del hígado y, así, no se depura en dicho órgano. La LDL modificada es captada por los receptores recolectores de los macrófagos. Los macrófagos ingurgitados con lípido se infiltran bajo el endotelio de los vasos sanguíneos (en particular cuando ya hay cierto daño del endotelio), y son muertos por el alto contenido de co-

lesterol no esterificado que han acumulado. Esto ocurre en la aparición de placas ateroscleróticas que, en casos extremos, pueden ocluir de modo más o menos completo un vaso sanguíneo.

Hay múltiples fuentes de radicales de oxígeno en el cuerpo

Las radiaciones ionizantes (rayos X y UV) pueden lisar el agua, lo que lleva a la formación de radicales hidroxilo. Los iones metálicos de transición, entre ellos Cu^+, Co^{2+}, Ni^{2+} y Fe^{2+}, pueden reaccionar de manera no enzimática con oxígeno o peróxido de hidrógeno, lo que de nuevo conduce a la formación de radicales hidroxilo. El óxido nítrico (el factor de relajación derivado del endotelio) en sí es un radical y, lo que es más importante, puede reaccionar con el superóxido para dar peroxinitrito, que se desintegra para formar radicales hidroxilo (**figura 45-2**).

La explosión respiratoria de macrófagos activados (cap. 52) es la utilización incrementada de glucosa por medio de la vía de la pentosa fosfato (cap. 21) para reducir $NADP^+$ a NADPH, y utilización aumentada de oxígeno para oxidar NADPH para producir radicales de oxígeno (y halógeno) como agentes citotóxicos para matar microorganismos fagocitados. La oxidasa de la explosión respiratoria (NADPH oxidasa) es una flavoproteína que reduce el oxígeno hacia superóxido: $NADPH + 2O_2 \rightarrow NADP^+ + 2O_2^{\cdot -} + 2H^+$. Los marcadores plasmáticos de daño de lípidos por radical incrementan de modo considerable en respuesta a incluso una infección leve.

La oxidación de coenzimas flavina reducidas en las cadenas de transporte de electrones mitocondrial (cap. 13) y microsómica procede por una serie de pasos en los cuales el radical flavina semiquinona es estabilizado por la proteína a la cual está unido, y forma radicales de oxígeno como intermediarios transitorios. Aunque los productos finales no son radicales, debido a la naturaleza impredecible de los radicales hay considerable "escape" de éstos, y alrededor de 3 a 5% del consumo diario de 30 mol de oxígeno por un ser humano adulto se convierte en oxígeno singlete, peróxido de hidrógeno, y radicales superóxido, perhidroxilo e hidroxilo, en lugar de pasar por reducción completa hacia agua. Esto da por resultado la producción diaria de aproximadamente 1.5 mol de especies de oxígeno reactivas.

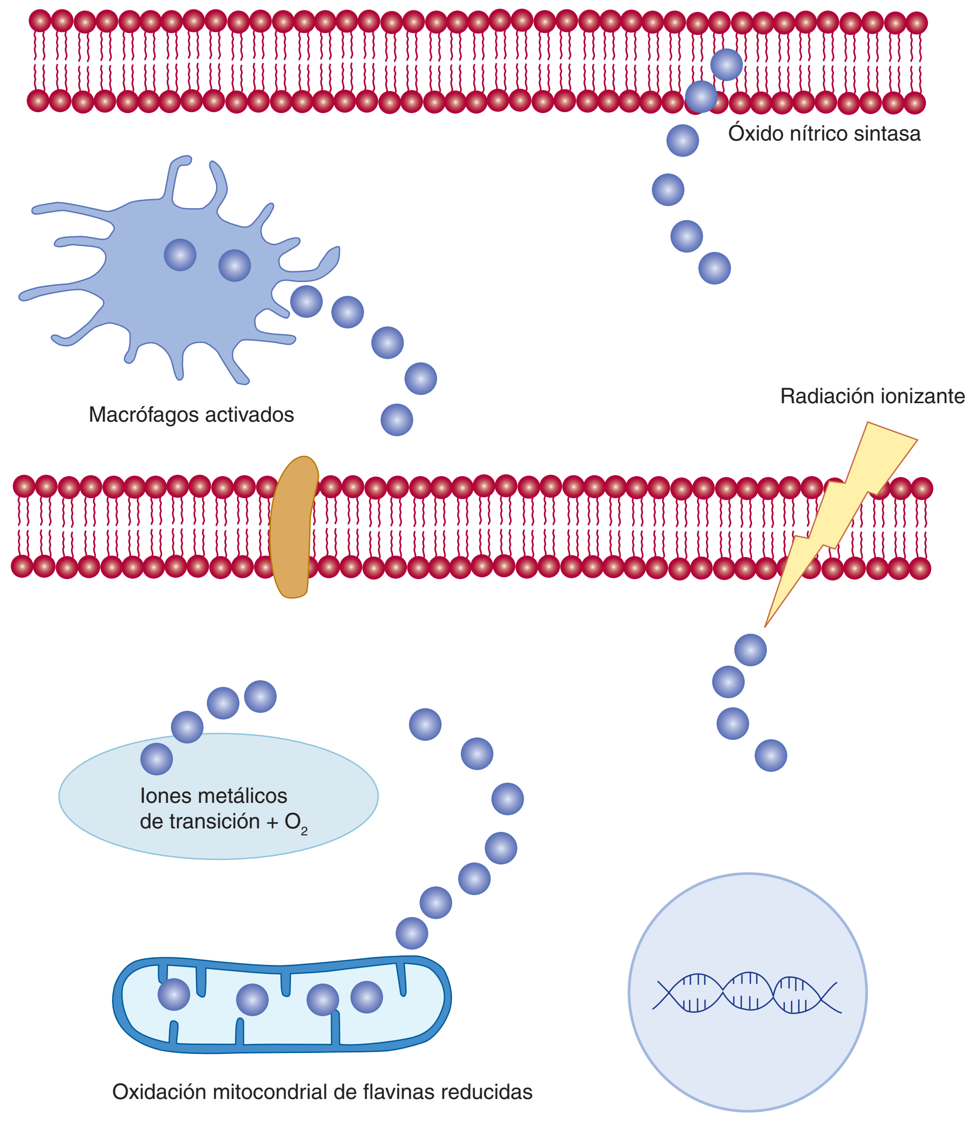


FIGURA 45–2 **Fuentes de radicales.**

Hay varios mecanismos de protección contra daño por radical

Los iones metálicos que pasan por reacción no enzimática para formar radicales de oxígeno normalmente no se encuentran libres en solución, sino que están unidos a las proteínas para las cuales proporcionan el grupo prostético, o a proteínas de transporte y almacenamiento específicas, de manera que son no reactivos. El hierro está unido a la transferrina, ferritina y hemosiderina, el cobre a la ceruloplasmina, y otros iones metálicos están unidos a metalotioneína. Esta unión a proteínas de transporte que son demasiado grandes como para que se filtren en los riñones también evita la pérdida de iones metálicos en la orina.

El superóxido se produce de modo accidental, y como las especies de oxígeno reactivas requeridas para diversas reacciones catalizadas por enzima. Una familia de superóxido dismutasas cataliza la reacción entre superóxido y protones para dar oxígeno y peróxido de hidrógeno: $O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$. El peróxido de hidrógeno a continuación es eliminado por la catalasa y por diversas peroxidasas: $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$; casi todas las enzimas que producen y requieren superóxido están en los peroxisomas, junto con la superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasas.

Los peróxidos que se forman por daño por radical de lipoides en membranas y lipoproteínas plasmáticas son reducidos hacia ácidos grasos hidroxi por la glutatión peroxidasa, una enzima dependiente de selenio (de ahí la importancia de la ingestión adecuada de selenio para maximizar la actividad antioxidante), y el glutatión oxidado es reducido por la glutatión reductasa dependiente de NADPH (figura 21-3). Los peróxidos de lípidos también se reducen hacia ácidos grasos mediante reacción con vitamina E, lo que forma el radical tocoferoxilo relativamente estable, el cual persiste suficiente tiempo como para pasar por reducción de regreso hacia tocoferol por medio de reacción con vitamina C en la superficie de la célula o la lipoproteína (figura 44-6). El radical monodehidroascorbato resultante luego pasa por reducción enzimática de regreso hacia ascorbato o una reacción no enzimática de 2 mol de monodehidroascorbato para dar 1 mol, cada uno, de ascorbato y dehidroascorbato.

El ascorbato, el ácido úrico y diversos polifenoles derivados de alimentos de origen vegetal actúan como antioxidantes hidrosolubles que atrapan radical, lo que forma radicales relativamente estables que persisten suficiente tiempo como para pasar por reacción hacia productos no radicales. De manera similar, la ubiquinona y los carotenos actúan como antioxidantes liposolubles que atrapan radical en membranas y lipoproteínas plasmáticas.

Los antioxidantes también pueden ser prooxidantes

Si bien el ascorbato es un antioxidante, que reacciona con superóxido e hidroxilo para dar monodehidroascorbato y peróxido de hidrógeno o agua, también puede ser una fuente de radicales superóxido mediante reacción con oxígeno, y de radicales hidroxilo por medio de reacción con iones de Cu^{2+} (**cuadro 45-1**). Empero, estas acciones prooxidantes necesitan cifras relativamente altas de ascorbato que es poco probable que se alcancen en los tejidos, porque una vez que la concentración plasmática de ascorbato alcanza alrededor de 30 mmol/L, se llega al umbral renal, y a ingestiones por arriba de aproximadamente 100 a 120 mg/día la vitamina se excreta en la orina de modo cuantitativo con la ingestión.

CUADRO 45–1 Funciones antioxidantes y prooxidantes de la vitamina C

Funciones antioxidantes:
Ascorbato + $O_2^{\cdot-} \rightarrow H_2O_2$ + monodehidroascorbato; la catalasa y las peroxidasas catalizan la reacción: $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$
Ascorbato + $OH^{\cdot} \rightarrow H_2O$ + monodehidroascorbato
Funciones prooxidantes
Ascorbato + $O_2 \rightarrow O_2^{\cdot-}$ + monodehidroascorbato
Ascorbato + $Cu^{2+} \rightarrow Cu^+$ + monodehidroascorbato
$Cu^+ + H_2O_2 \rightarrow Cu^{2+} + OH^- + OH^{\cdot}$

Una cantidad considerable de evidencia epidemiológica sugiere que el caroteno protege contra cánceres pulmonar y de otros tipos. Con todo, dos estudios de intervención importantes en el decenio de 1990-1999 mostraron un aumento de las muertes por cáncer pulmonar (y de otros tipos) entre personas que recibieron complementos de β-caroteno. El problema es que si bien el β-caroteno en realidad es un antioxidante que atrapa radicales en condiciones de presión parcial baja de oxígeno, como en casi todos los tejidos, a presiones parciales altas de oxígeno (como en los pulmones) y especialmente en concentraciones altas, el β-caroteno es un prooxidante autocatalítico y, en consecuencia, puede iniciar daño de lípidos y proteínas por radicales.

Evidencia epidemiológica también sugiere que la vitamina E es protectora contra aterosclerosis y enfermedad cardiovascular. Aun así, metaanálisis de estudios de intervención con vitamina E muestran incremento de la mortalidad entre quienes toman complementos (en dosis altas). En todos estos estudios se ha usado α-tocoferol, y es posible que los otros vitámeros de la vitamina E que están presentes en los alimentos, no así en los complementos, tengan importancia. *In vitro,* las proteínas plasmáticas forman menos hidroperóxido de éster de colesterol cuando se incuban con fuentes de concentraciones bajas de radicales perhidroxilo cuando la vitamina E se ha eliminado que cuando está presente. El problema parece ser que la vitamina E actúa como un antioxidante al formar un radical estable que persiste lo suficiente como para pasar por metabolismo hacia productos no radicales. Esto significa que el radical también persiste suficiente tiempo como para penetrar a mayor profundidad en la lipoproteína, lo que da por resultado más daño por radical, en lugar de interactuar con un antioxidante hidrosoluble en la superficie de la lipoproteína.

RESUMEN

- Los radicales libres son especies moleculares muy reactivas con un electrón no pareado. Pueden reaccionar con, además de modificar, proteínas, ácidos nucleicos y ácidos grasos en las membranas celulares y las lipoproteínas plasmáticas.
- El daño por radical de lípidos y proteínas en lipoproteínas plasmáticas es un factor en la aparición de aterosclerosis y arteriopatía coronaria; el daño por radical de ácidos nucleicos

puede inducir mutaciones hereditarias y cáncer; el daño por radical de proteínas puede llevar a enfermedades autoinmunitarias.

- Los radicales de oxígeno se forman como resultado de exposición a radiación ionizante, reacciones no enzimáticas de iones metálicos de transición, la explosión respiratoria de macrófagos activados, y la oxidación normal de coenzimas flavina reducidas.
- La protección contra daño por radicales es proporcionada por enzimas que eliminan iones superóxido y peróxido de hidrógeno, reducción enzimática de peróxidos de lípidos enlazados a oxidación de glutatión, reacción no enzimática de peróxidos de lípidos con vitamina E, y reacción de radicales con compuestos como vitaminas C y E, caroteno, ubiquinona, ácido úrico, y polifenoles de la dieta que forman radicales relativamente estables que persisten suficiente tiempo como para pasar por una reacción hacia productos no radicales.
- Salvo en personas que al principio tuvieron deficiencia, los estudios de intervención sobre vitamina E y β-caroteno en general han mostrado aumento de la mortalidad entre quienes toman los complementos. El β-caroteno sólo es un antioxidante a cifras bajas de oxígeno; a concentraciones más altas de oxígeno es un prooxidante autocatalítico. La vitamina E forma un radical estable que tiene la capacidad de reaccionar con antioxidantes hidrosolubles o de penetrar más hacia lipoproteínas y tejidos, de manera que incrementa el daño por radicales.

REFERENCIAS

Asplund K: Antioxidant vitamins in the prevention of cardiovascular disease: a systematic review. J Intern Med 2002;251:372.

Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, et al: Mortality in randomised trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention. JAMA 2007;297:842.

Burton G, Ingold K: β-Carotene, an unusual type of lipid antioxidant. Science 1984;224:569.

Carr A, Frei B: Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? FASEB J 1999;13:1007.

Cordero Z, Drogan D, Weikert C, et al: Vitamin E and risk of cardiovascular diseases: a review of epidemiologic and clinical trial studies. Crit Rev Food Sci Nutr 2010; 50;420.

Dotan Y, Lichtenberg D, Pinchuk I: No evidence supports vitamin E indiscriminate supplementation. Biofactors 2009;35:469.

Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE: Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now? J Lab Clin Med 1992;119:598.

Imlay JA: Pathways of oxidative damage. Ann Rev Microbiol 2003;57:395.

Imlay JA: Cellular Defenses against superoxide and hydrogen peroxide. Ann Rev Biochem 2008;77:755.

Klaunig JE, Kamendulis LM: The role of oxidative stress in carcinogenesis. Ann Rev Pharm Tox 2004;44:239.

Miller ER, Pastor-Barriuso R, Dalal D, et al: Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. Ann Intern Med 2005;142:37.

Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, et al: Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. N Engl J Med 1996;334:1150.

Various authors: Symposium: Antioxidant vitamins and β-carotene in disease prevention. Amer J Clin Nutr 1995;62(suppl 6): 12995–15405.

Various authors: Symposium Proceedings: Molecular mechanisms of protective effects of vitamin E in atherosclerosis. J Nutr 2001;131:366–397.

CAPÍTULO 46

Tráfico y distribución intracelulares de proteínas

Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Saber que muchas proteínas son direccionadas mediante secuencias de señal hacia sus destinos correctos, y que el aparato de Golgi desempeña un papel importante en la distribución de proteínas.
- Entender qué señales especializadas están involucradas en la distribución de proteínas hacia mitocondrias, el núcleo y peroxisomas.
- Apreciar que los péptidos señal N terminal desempeñan un papel clave en la dirección de proteínas recién sintetizadas hacia la luz del retículo endoplásmico.
- Saber que los chaperones evitan el plegamiento defectuoso de otras proteínas, que existen mecanismos para desechar proteínas que muestran plegamiento erróneo, y que el retículo endoplásmico actúa como un compartimiento de control de calidad.
- Comprender que la ubiquitina es una molécula clave en la degradación de proteína.
- Reconocer el papel importante de las vesículas de transporte en el transporte intracelular.
- Apreciar que muchas enfermedades se producen por mutaciones en genes que codifican para proteínas involucradas en el transporte intracelular, y estar familiarizado con los términos enfermedades conformacionales y enfermedades de deficiencia proteostática.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las proteínas deben viajar desde los polirribosomas, donde se sintetizan, hacia muchos sitios diferentes en la célula para desempeñar sus funciones particulares. Algunas están destinadas a ser componentes de organelos específicos, otras al citosol o a exportación, y aún otras estarán ubicadas en las diversas membranas celulares. Así, hay considerable **tráfico intracelular de proteínas**. Una información importante fue el reconocimiento por Blobel y posteriormente de otros de que, para que las proteínas alcancen sus ubicaciones apropiadas, por lo general contienen **información** (una señal o secuencia de codificación) que las **dirige** de modo apropiado. Una vez que se definieron varias de las señales (**cuadro 46-1**), quedó de manifiesto que **ciertas enfermedades** se producen por mutaciones que afectan estas señales. En este capítulo se comentan el tráfico intracelular de proteínas y su organización, y se consideran de manera breve algunos de los trastornos que sobrevienen cuando ocurren anormalidades.

MUCHAS PROTEÍNAS SON DIRIGIDAS POR SECUENCIAS DE SEÑAL HACIA SUS DESTINOS CORRECTOS

Las vías biosintéticas de proteína en las células pueden considerarse **un gran sistema de distribución grande**. Muchas proteínas portan **señales** (por lo regular secuencias de aminoácidos específicas) que las dirigen hacia su destino; de esta manera se asegura que terminarán en la membrana o el compartimiento celular apropiado; estas señales son un componente fundamental del sistema de distribución. Por lo general las secuencias de señal se reconocen e interactúan con áreas complementarias de otras proteínas que sirven como receptores para las que contienen las señales.

En etapas tempranas de la biosíntesis de proteína **se toma una importante decisión en cuanto a la distribución**, cuando se sintetizan proteínas específicas en **polirribosomas libres** o en

CUADRO 46–1 Algunas secuencias o moléculas que dirigen proteínas hacia organelos específicos

Secuencia o compuesto de dirección	Organelo al cual se dirige
Secuencia de péptido señal N terminal	ER
Secuencia KDEL carboxilo terminal (Lis-Asp-Glu-Leu) en proteínas residentes en el ER en vesículas COPI	Superficie luminal del ER
Secuencias diacídicas (p. ej., Asp-X-Glu) en proteínas de membrana en vesículas COPII	Membranas de Golgi
Secuencia amino terminal (20 a 50 residuos)	Matriz mitocondrial
NLS (p. ej., Pro_2-Lis_3-Arg-Lis-Val)	Núcleo
PTS (p. ej., Ser-Lis-Leu)	Peroxisoma
Manosa 6-fosfato	Lisosoma

Abreviaturas: NLS, señal de localización nuclear; PTS, secuencia de dirección de matriz peroxisómica.

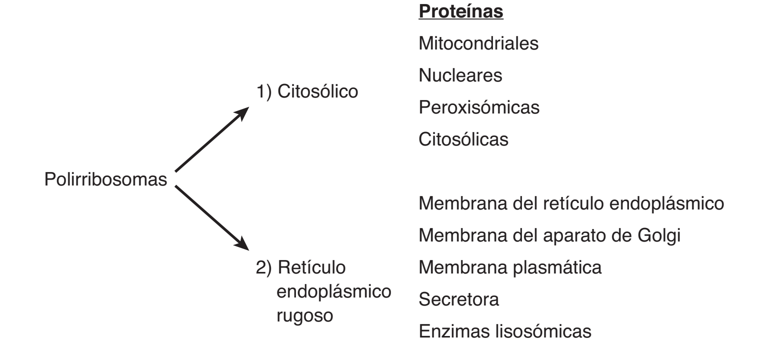


FIGURA 46–1 Representación esquemática de las dos ramas de clasificación de proteína que ocurre por medio de síntesis en polirribosomas 1) citosólicos y 2) unidos a membrana. Las proteínas mitocondriales listadas son codificadas por genes nucleares; en el cuadro 46-1 se lista una de las señales que se usan en la clasificación adicional de proteínas de matriz mitocondrial.

polirribosomas unidos a membrana. Tiene importancia entender que estos dos tipos de ribosomas tienen estructura idéntica y son en potencia intercambiables. Sin embargo, si una cadena polipeptídica en crecimiento fija a polirribosomas carece de un péptido señal N terminal (véase más adelante), no interactuarán con la membrana del retículo endoplásmico (ER) y los polirribosomas se describen como citosólicos. Por otro lado, una cadena polipeptídica en crecimiento que contiene un péptido señal N terminal interactuará con la membrana del ER, y los polirribosomas a los cuales está fija se describen como unidos a membrana. Esto da lugar a dos ramas de distribución, llamadas la **rama citosólica** y la **rama del ER rugoso** (**RER**) (**figura 46-1**).

Las proteínas sintetizadas por polirribosomas citosólicos se dirigen hacia las mitocondrias, el núcleo y los peroxisomas por medio de señales específicas, o permanecen en el citosol si carecen de una señal. Cualquier proteína que contiene una secuencia de dirección que después se elimina se llama **preproteína**. En algunos casos también se elimina un segundo péptido, y en ese caso la proteína original se conoce como **preproproteína** (p. ej., preproalbúmina; cap. 50).

Las proteínas que se sintetizan y clasifican en la **rama del ER rugoso** (figura 46-1) incluyen muchas destinadas para diversas membranas (p. ej., del ER, aparato de Golgi [GA], membrana plasmática [PM]) y para secreción. Las enzimas lisosómicas también están comprendidas. De este modo, estas diversas proteínas pueden residir en las membranas o en la luz del ER, o seguir la ruta de transporte importante de proteínas intracelulares hacia el GA. La vía completa de ER → GA → PM suele denominarse **vía secretoria** o **exocítica**. La vía secretora se delineó por vez primera por la investigación de George Palade y colegas, que usaron aminoácidos radiactivos y radioautografía para dar seguimiento al destino de proteínas sintetizadas en el páncreas exocrino. Aquí se prestará especial atención a eventos a lo largo de la vía secretora. Las proteínas destinadas para el GA, la PM, ciertos otros sitios, o para secreción, se portan en **vesículas de transporte** (**figura 46-2**); más adelante se dará una breve descripción de la formación de estas partículas importantes. Ciertas otras proteínas destinadas para secreción se acarrean en **vesículas secretoras** (figura 46-2). Éstas son prominentes en el páncreas y en ciertas otras glándulas. Su movilización y secreción están reguladas, y a menudo se llaman **"secreción regulada"**. En contraste, el transporte de vesículas que ocurre de manera continua mediante la vía secretora se denomina **"transporte constitutivo"**. En el capítulo 47 se describe el paso de enzimas hacia los lisosomas usando la señal de manosa 6-fosfato.

El aparato de Golgi participa en la glucosilación y clasificación de proteínas

El **aparato de Golgi** tiene dos funciones importantes en la síntesis de proteína. En primer lugar, participa en el **procesamiento de las cadenas de oligosacárido** de la membrana y otras glucoproteínas ligadas a N, y contiene también enzimas involucradas en la *O*-glucosilación (cap. 47). En segundo lugar, participa en la **distribución** de diversas proteínas antes de su aporte hacia sus destinos intracelulares apropiados. Todas las partes del GA participan en la primera función, mientras que la **red *trans*-Golgi** está involucrada particularmente en la segunda, y tiene contenido muy alto de vesículas.

Una amplia variedad de técnicas experimentales se ha usado para investigar el tráfico y la distribución

Los métodos que han proporcionado información importante sobre los procesos descritos en este capítulo son: 1) microscopia electrónica; 2) uso de mutantes de levadura; 3) fraccionamiento subcelular; 4) aplicación de las técnicas de DNA recombinante (p. ej., mutación o eliminación de secuencias particulares en proteínas, o fusión de nuevas secuencias en ellas); 5) creación de sistemas *in vitro* (p. ej., para estudiar la translocación en el ER y mecanismos de formación de vesícula); 6) uso de marcas fluorescentes para seguir el movimiento de proteínas, y 7) estudios estructurales sobre ciertas proteínas, en particular mediante cristalografía con rayos X.

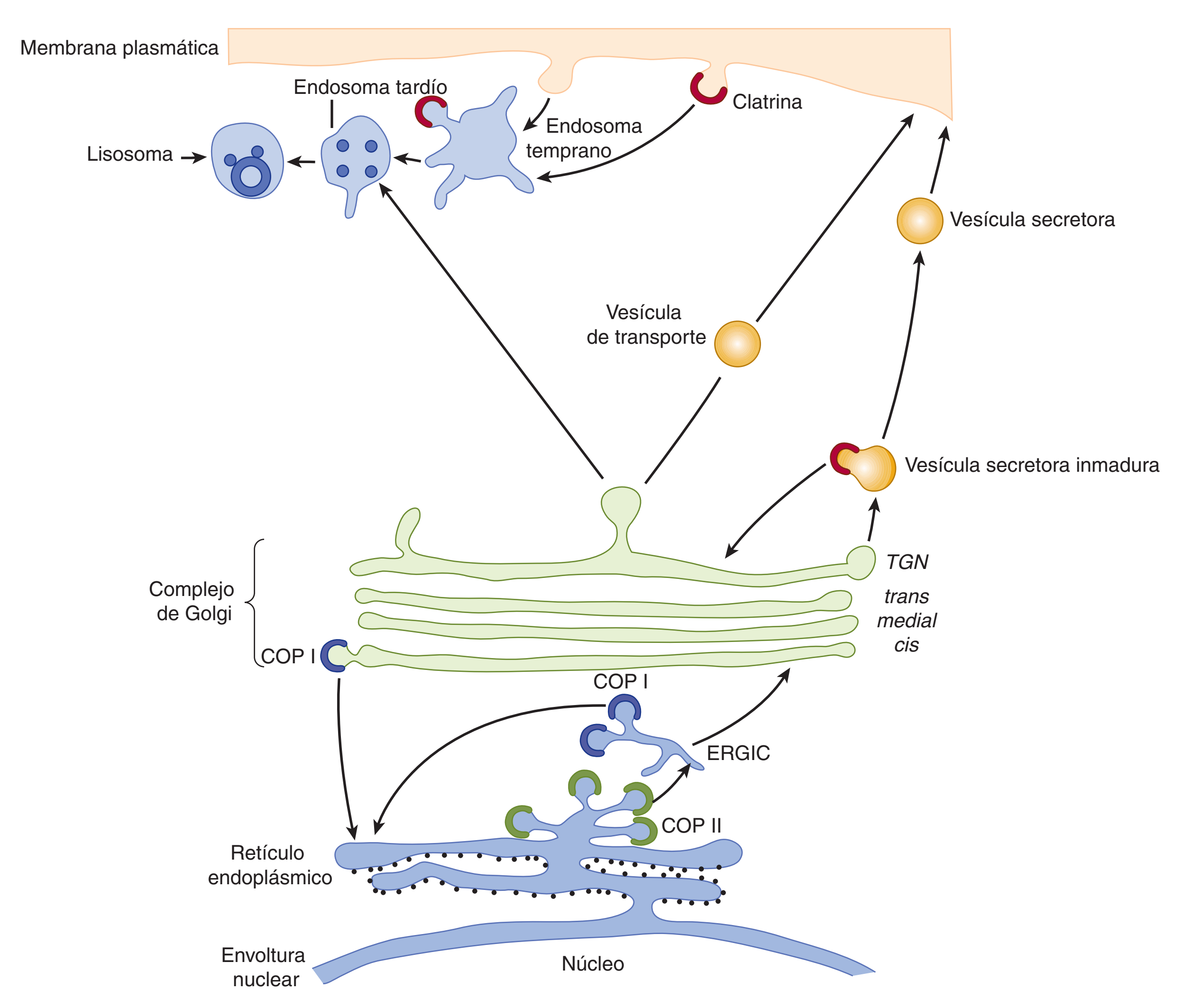


FIGURA 46–2 **Representación esquemática de la rama de clasificación de proteína del ER rugoso.** Las proteínas recién sintetizadas se insertan en la membrana o en la luz del ER desde polirribosomas unidos a membrana (pequeños círculos de color negro que tachonan la cara citosólica del ER). Las proteínas que se transportan hacia afuera del ER, son acarreadas en vesículas COPII hacia el *cis*-Golgi (transporte anterógrado). Las proteínas parecen moverse a través del aparato de Golgi principalmente por medio de maduración de las cisternas. En la TGN, el lado de salida del aparato de Golgi, las proteínas se segregan y clasifican. Las proteínas secretoras se acumulan en vesículas secretoras (secreción regulada), desde las cuales se expulsan en la membrana plasmática. Las proteínas destinadas para la membrana plasmática o las que se secretan de una manera constitutiva se llevan hacia afuera de la superficie celular en vesículas de transporte que hasta ahora quedan por caracterizar (secreción constitutiva). Las vesículas cubiertas por clatrina participan en la endocitosis; acarrean carga hacia endosomas tardíos y hacia lisosomas. La manosa 6-fosfato (que no se muestra; cap. 47) actúa como una señal para transportar enzimas hacia lisosomas. Las vesículas COPI participan en la recuperación de proteínas desde el aparato de Golgi hacia el ER (transporte retrógrado), y quizá estén involucradas en algo de transporte intra-Golgi. Las vesículas COPII están involucradas en concentrar carga para exportación desde el ER hacia el GA. En circunstancias normales la carga pasa a través del compartimento ERGIC hacia el GA. (TGN, red *trans*-Golgi; ERGIC, complejo intermedio ER-Golgi.) (Cortesía de E Degen.)

A continuación se describe la clasificación de proteínas que pertenecen a **la rama citosólica** a la cual se hizo referencia, empezando por las proteínas mitocondriales.

LA MITOCONDRIA IMPORTA PROTEÍNAS Y LAS SINTETIZA

Las **mitocondrias** contienen muchas proteínas. Trece polipéptidos (en su mayor parte componentes de membrana de la cadena de transporte de electrón) son codificados por el **genoma mitocondrial** (**mt**), y se sintetizan en este organelo usando su propio sistema de síntesis de proteínas. Sin embargo, casi todos (al menos varios cientos) son codificados por **genes nucleares**, se sintetizan fuera de las mitocondrias en **polirribosomas** citosólicos, y se deben importar. Las **células de levadura** han resultado ser un sistema en especial útil para analizar los mecanismos de importación de proteínas mitocondriales, en parte porque ha resultado posible generar diversos **mutantes** que han aclarado los procesos fundamentales involucrados. Casi todo el progreso se ha hecho en el estudio de proteínas presentes en **la matriz mitocondrial**, como las subunidades F_1 de ATPasa. Aquí sólo se comentará con algún detalle la vía de importación de proteínas de matriz.

Las **proteínas de matriz** deben pasar desde polirribosomas citosólicos a través de las **membranas mitocondriales externa** e **interna** para llegar a su destino. El paso a través de las dos membranas se llama **translocación**. Tienen una secuencia líder amino terminal (**presecuencia**), de alrededor de 20 a 50 aminoácidos de largo (cuadro 46-1), que no está muy conservada pero es an-

fipática y contiene muchos aminoácidos hidrofóbicos y con carga positiva (p. ej., Lis o Arg). La presecuencia es equivalente a un péptido señal que media la fijación de polirribosomas a membranas del ER (véase más adelante), pero en este caso **dirigiendo proteínas hacia la matriz**. En la **figura 46-3** se muestran algunas características generales del paso de una proteína desde el citosol hacia la matriz mitocondrial.

La translocación ocurre de modo **postraduccional**, después que las proteínas de matriz se liberan desde los polirribosomas citosólicos. Las interacciones con varias proteínas citosólicas que actúan como **chaperones** (véase más adelante) y como **factores de dirección** suceden antes de la translocación.

Dos **complejos de translocación** distintos están situados en las membranas mitocondriales externa e interna, lo que se denomina (respectivamente) TOM (translocasa de la membrana externa) y TIM (translocasa de la membrana interna). Se ha analizado cada complejo, y se ha encontrado que está compuesto de varias proteínas, algunas de las cuales actúan como **receptores** (p. ej., **Tom20/22**) para las proteínas que están llegando, y otros como **componentes** (p. ej., **Tom40**) **de los poros transmembrana** a través de los cuales deben pasar estas proteínas. Las proteínas deben hallarse en el **estado desdoblado** para pasar por los complejos, y esto se hace posible por medio de **la unión** (**dependiente de ATP**) **a varias proteínas chaperón**. Las funciones de las proteínas chaperón en el plegado de proteínas se comentan más adelante en este capítulo. En las mitocondrias, participan en la translocación, clasificación, plegado, montaje y degradación de proteínas importadas. La importación requiere una **fuerza motriz de protón** a través de la membrana interna; consta del **potencial eléctrico** a través de la membrana (negativo dentro) y el **gradiente de pH** (cap. 13). La secuencia líder con carga positiva puede recibir ayuda a través de la membrana mediante la carga negativa en la matriz. La presecuencia se divide en la matriz por medio de una **proteasa de procesamiento de**

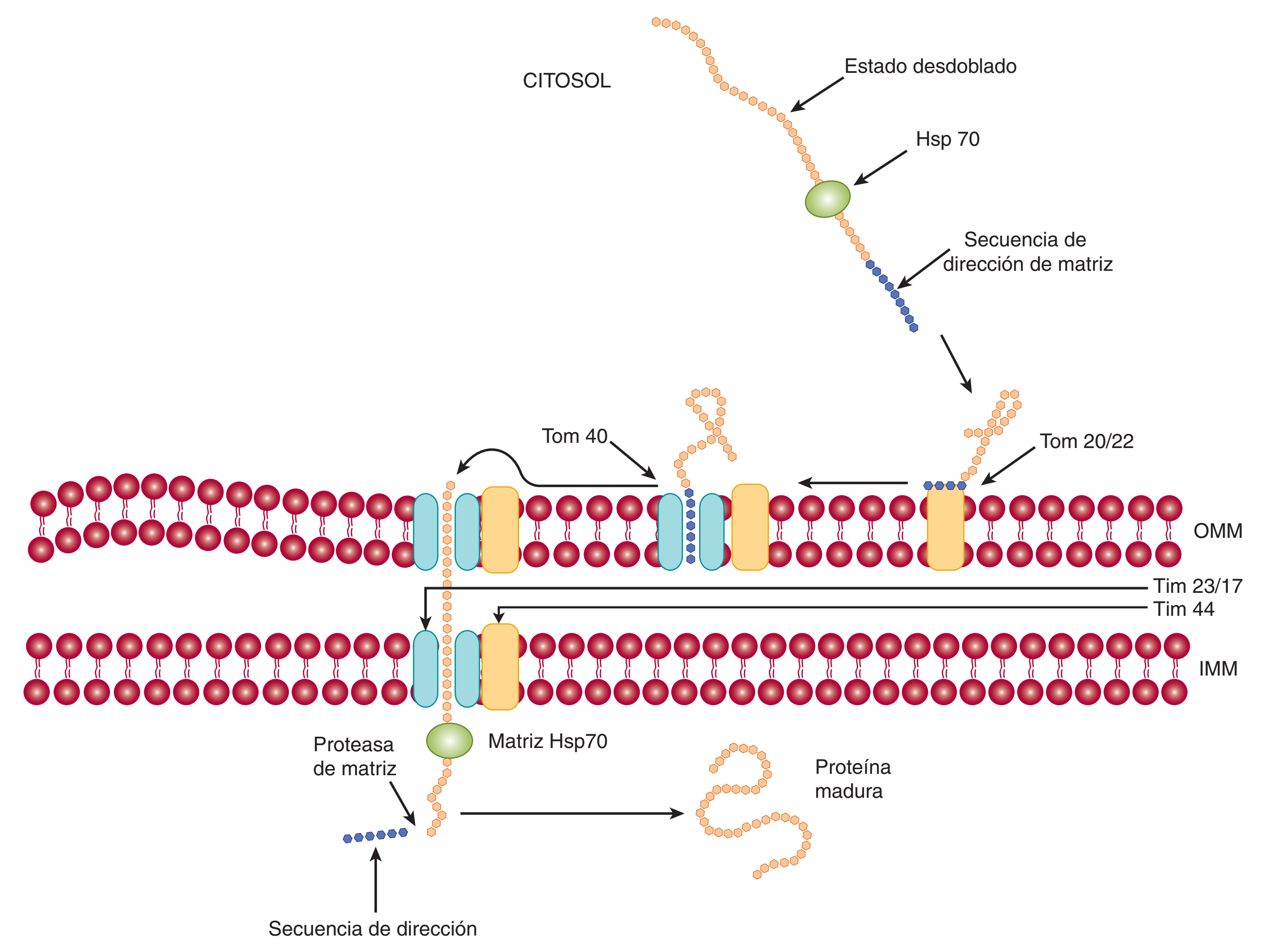


FIGURA 46–3 Representación esquemática de la entrada de una proteína hacia la matriz mitocondrial. La proteína desdoblada sintetizada en polirribosomas citosólicos y que contiene una secuencia de dirección a matriz interactúa con el chaperón citosólico Hsp 70. A continuación la proteína interactúa con el receptor de membrana externa mt Tom 20/22, y se transfiere hacia el canal de importación vecino Tom 40 (Tom, translocón de la membrana externa). Después la proteína se transloca a través del canal; el canal en la membrana mt interna está en gran parte compuesto de proteínas Tim 23 y Tim 17 (Tim, translocón de la membrana interna). En el lado de la membrana mt interna, interactúa con el chaperón de matriz Hsp 70 que, a su vez, interactúa con la proteína de membrana Tim 44. La hidrólisis de ATP por medio de Hsp70 mt probablemente ayuda a impulsar la translocación, como lo hace el interior electronegativo de la matriz. Después la enzima de procesamiento de matriz divide la secuencia de dirección, y la proteína importada adopta su forma final, o puede interactuar con una chaperonina mt antes de esto. En el sitio de translocación, las membranas mt interna y externa se encuentran en estrecho contacto. OMM, membrana mitocondrial externa; IMM, membrana mitocondrial interna. (Modificada, con autorización, de Lodish H, *et al*.: *Molecular Cell Biology,* 6th ed. W.H. Freeman & Co., 2008.)

matriz (**MPP**). El contacto con **otros chaperones** presentes en la matriz es esencial para completar el proceso de importación general. La interacción con mt-Hsp70 (mt = mitocondrial; Hsp = proteína de choque por calor; 70 = ~ 70 kDa) asegura importación apropiada hacia la matriz, y evita plegado inadecuado o agregación, mientras que la interacción con el sistema mt-Hsp60-Hsp10 asegura plegado apropiado. Las interacciones de proteínas importadas con los chaperones anteriores necesitan **hidrólisis de ATP** para impulsarlas.

No se han dilucidado por completo los detalles de cómo se translocan las preproteínas. Es posible que el potencial eléctrico relacionado con la membrana mitocondrial interna cause un cambio conformacional en la preproteína desdoblada que se está translocando, y que esto ayude a tirar de ella. Además, el hecho de que la matriz es más negativa que el espacio intermembrana puede "atraer" el amino terminal con carga positiva de la preproteína para que entre en la matriz. Para que ocurra translocación se requiere aposición estrecha en **sitios de contacto** entre las membranas externa e interna.

Lo anterior describe la vía importante de proteínas destinadas a la matriz mitocondrial. Empero, ciertas proteínas se insertan en la **membrana mitocondrial externa**, lo cual es facilitado por el complejo TOM. Otras se detienen en el **espacio intermembrana**, y algunas se insertan en la **membrana interna**. Aún otras proceden hacia la matriz y después regresan a la membrana interna o el espacio intermembrana. Varias proteínas contienen dos secuencias emisoras de señal: una para entrar en la matriz mitocondrial y la otra para mediar la reubicación subsiguiente (p. ej., hacia la membrana interna). Ciertas proteínas mitocondriales no contienen presecuencias (p. ej., citocromo *c*, que se ubica en el espacio intermembrana) y otras contienen **presecuencias internas**. En general, las proteínas emplean diversos mecanismos y rutas para llegar a sus destinos finales en las mitocondrias.

En el **cuadro 46-2** se resumen las características generales que se aplican a la importación de proteínas hacia organelos, entre ellos las mitocondrias y algunos de los otros organelos que se comentan más adelante.

CUADRO 46–2 Algunas características generales de la importación de proteínas hacia organelos

- La importación de una proteína hacia un organelo por lo general sucede en tres etapas: reconocimiento, translocación y maduración.
- Las secuencias de dirección sobre la proteína son reconocidas en el citoplasma o sobre la superficie del organelo.
- La proteína por lo general se desdobla para translocación, un estado mantenido en el citoplasma por medio de chaperones.
- El paso de la proteína a través de una membrana necesita energía y chaperones de organelos en el lado *trans* de la membrana.
- Los ciclos de unión y liberación de la proteína al chaperón producen tracción de su cadena polipeptídica a través de la membrana.
- Otras proteínas dentro del organelo catalizan el plegado de la proteína, a menudo fijan cofactores u oligosacáridos y los montan hacia monómeros u oligómeros activos.

Fuente: Datos tomados de McNew JA, Goodman JM: The targeting and assembly of peroxisomal proteins: some old rules do not apply. Trends Biochem Sci 1998;21:54. Reimpreso con autorización de Elsevier.

LAS SEÑALES DE LOCALIZACIÓN, IMPORTINAS Y EXPORTINAS, ESTÁN INVOLUCRADAS EN EL TRANSPORTE DE MACROMOLÉCULAS HACIA ADENTRO Y HACIA AFUERA DEL NÚCLEO

Se ha estimado que en una célula eucariótica activa cada minuto se transportan más de un millón de macromoléculas entre el núcleo y el citoplasma. Estas macromoléculas comprenden histonas, proteínas ribosómicas y subunidades ribosómicas, factores de transcripción y moléculas de mRNA. El transporte es bidireccional y sucede a través de los **complejos de poro nuclear** (NPC). Se trata de estructuras complejas con una masa de unas 15 veces la de un ribosoma, y están compuestas de agregados de alrededor de 30 proteínas diferentes. El diámetro mínimo de un NPC es de alrededor de 9 nm. Las moléculas de menos de alrededor de 40 kDa pueden pasar por el canal del NPC mediante **difusión**, pero hay **mecanismos de translocación particulares** para moléculas de mayor tamaño. Estos mecanismos se están investigando de modo intensivo, pero ya han surgido algunas características importantes.

Aquí se describirá la **importación nuclear** de ciertas macromoléculas. El cuadro general que ha surgido es que las proteínas que se van a importar (moléculas de carga) portan una **señal de localización nuclear** (**NLS**). Un ejemplo de una NLS es la secuencia de aminoácidos $(Pro)_2$-$(Lis)_3$-Arg-Lis-Val (cuadro 46-1), bastante rica en residuos básicos. Dependiendo de cuál NLS contiene, una molécula de carga interactúa con una de una familia de proteínas solubles llamadas **importinas**, y el complejo se **acopla** de manera transitoria en el NPC. Otra familia de proteínas denominadas **Ran** desempeña una función reguladora crucial en la interacción del complejo con el NPC y en su translocación a través del NPC. Las proteínas Ran son **GTPasas** nucleares monoméricas pequeñas y, al igual que otras GTPasas, existen en estados unidos a GTP o a GDP. Se regulan por sí mismas por medio de **factores de intercambio de nucleótido guanina** (**GEF**), que están localizados en el núcleo, y **proteínas aceleradoras de GTPasa** (**GAP**) Ran, que son predominantemente citoplásmicas. El estado de Ran unido a GTP se favorece en el núcleo, y el estado unido a GDP, en el citoplasma. Las conformaciones y actividades de moléculas Ran varían dependiendo de si está unido a ellas GTP o GDP (el estado unido a GTP es activo; véase la exposición sobre proteínas G en el cap. 42). Se cree que la **asimetría** entre el núcleo y el citoplasma —respecto a cuál de estos dos nucleótidos está unido a moléculas Ran— es crucial en el entendimiento de las funciones de Ran en la transferencia unidireccional de complejos a través del NPC. Cuando las **moléculas de carga** se **liberan dentro del núcleo**, las **importinas recirculan hacia el citoplasma** para ser usadas de nuevo. La **figura 46-4** resume algunas de las características principales en el proceso anterior.

Proteínas similares a las importinas, llamadas **exportinas**, participan en la exportación de muchas macromoléculas (diversas proteínas, moléculas de tRNA, subunidades ribosómicas y ciertas moléculas de mRNA) desde el núcleo. Las moléculas de carga para exportación portan **señales de exportación nuclear** (**NES**). Las proteínas Ran también están involucradas en este proceso, y ahora se encuentra establecido que los procesos de importación y exportación comparten varias características. La familia de las importinas y las exportinas se denomina **carioferinas**.

Otro sistema está involucrado en la translocación de casi todas las **moléculas de mRNA**, las cuales se exportan desde el núcleo hacia el citoplasma como complejos de ribonucleoproteína (RNP) fijos a una proteína llamada **exportador mRNP**. Ésta es una molécula heterodimérica (es decir, compuesta de dos subunidades diferentes, TAP y Nxt-1) que acarrea moléculas de RNP a través del NPC. Ran no está involucrada. Este sistema parece usar la hidrólisis de **ATP** mediante una RNA helicasa (Dbp5) para impulsar la translocación.

Otras **GTPasas monoméricas pequeñas** (p. ej., ARF, Rab, Ras y Rho) son importantes en diversos procesos celulares como la formación y el transporte de vesículas (ARF y Rab; véase más adelante), ciertos procesos de crecimiento y diferenciación (Ras), y formación del citoesqueleto de actina (Rho). Un proceso que involucra a GTP y GDP también es crucial en el transporte de proteínas a través de la membrana del ER (véase más adelante).

LAS PROTEÍNAS IMPORTADAS HACIA PEROXISOMAS PORTAN SECUENCIAS DE DIRECCIÓN SINGULARES

El **peroxisoma** es un organelo importante involucrado en aspectos del metabolismo de muchas moléculas, entre ellas ácidos grasos y otros lípidos (p. ej., plasmalógenos, colesterol, ácidos biliares), purinas, aminoácidos y peróxido de hidrógeno. El peroxisoma está delimitado por una sola membrana y contiene más de 50 enzimas; la catalasa y la urato oxidasa son enzimas marcadoras para este organelo. Sus proteínas se **sintetizan en polirribosomas citosólicos** y se pliegan antes de la importación. Se han estudiado las vías de importación de varias de sus proteínas y enzimas; algunas son **componentes de matriz** (**figura 46-5**) y otras **componentes de membrana**. Se han descubierto

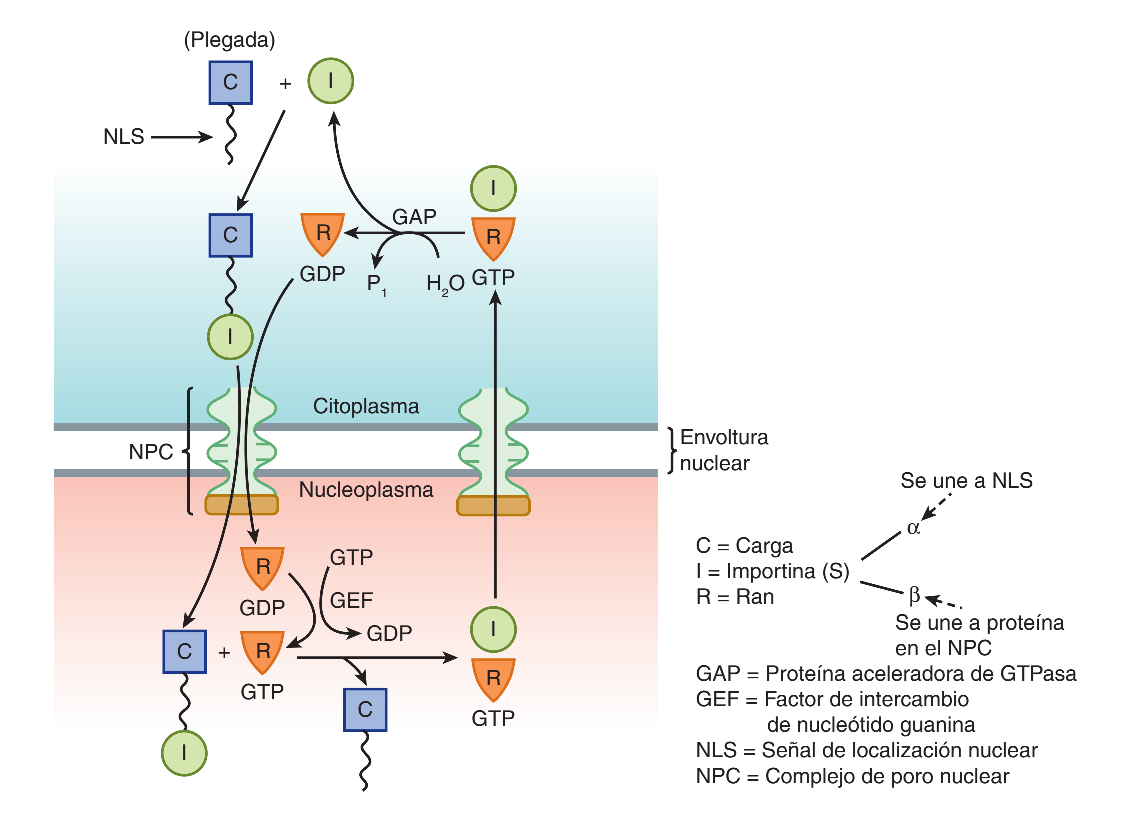


FIGURA 46–4 Representación simplificada de la entrada de una proteína hacia el nucleoplasma. Una molécula de carga en el citoplasma mediante su NLS interactúa para formar un complejo con una importina (parte superior izquierda de la figura); ésta puede ser importina α o importina tanto α como β. Este complejo a continuación interactúa con Ran·GDP y atraviesa el NPC hacia el nucleoplasma. En este último, el GEF convierte Ran·GDP en Ran·GTP, lo que origina un cambio conformacional de Ran, lo que causa liberación de la molécula de carga. El complejo de importina-Ran·GTP a continuación abandona el nucleoplasma por medio del NPC para regresar al citoplasma. En este último, debido a la acción de la proteína activadora de GTP (GAP), que convierte GTP en GDP, la importina se libera para participar en otro ciclo de importación. El Ran·GTP es la forma activa del complejo; la forma Ran·GDP se considera inactiva. Se cree que la direccionalidad es conferida en el proceso general por la disociación de Ran·GTP en el citoplasma. (C, molécula de carga; I, importina; NLS, señal localizadora nuclear; NPC, complejo de poro nuclear; GEF, factor de intercambio de nucleótido guanina; GAP, factor activador de GTPasa.) (Modificada, con autorización, de Lodish H, *et al*.: *Molecular Cell Biology,* 6th ed. W.H. Freeman & Co., 2008.)

por lo menos dos **secuencias de dirección de matriz peroxisómica** (**PTS**). Una, la **PTS1**, es un tripéptido (esto es, Ser-Lis-Leu [SKL], pero se han detectado variaciones de esta secuencia) localizado en el carboxilo terminal de varias proteínas de matriz, entre ellas la catalasa. Otra, **PTS2**, es un N terminal y se ha hallado en al menos cuatro proteínas de matriz (p. ej., tiolasa). Ninguna de estas dos secuencias se divide luego de entrar en la matriz. Las proteínas que contienen secuencias de PTS1 **forman complejos** con una proteína receptora citosólica (**Pex5**) y las proteínas que contienen secuencias PTS2 forman complejos con otra proteína receptora. Los complejos resultantes después interactúan con un complejo de receptor de membrana, **Pex2/10/12**, que los transloca hacia la matriz. También hay proteínas involucradas en el transporte adicional de proteínas hacia la matriz. Pex5 se recicla hacia el citosol. Se ha encontrado que casi todas las **proteínas de membrana** peroxisómicas no contienen ninguna de las dos secuencias de dirección anteriores, pero parece ser que contienen otras. El sistema de importación puede manejar **oligómeros intactos** (p. ej., la catalasa tetramérica). La importación de **proteínas de matriz** necesita **ATP**, no así la de **proteínas de membrana**.

La mayor parte de los casos de síndrome de Zellweger se debe a mutaciones en genes involucrados en la biogénesis de peroxisomas

Estudios sobre el **síndrome de Zellweger** han estimulado el interés por la importación de proteínas hacia peroxisomas. Dicho síndrome se manifiesta en el momento del nacimiento y se caracteriza por **deterioro neurológico profundo**; las víctimas suelen morir durante un año. El número de peroxisomas puede variar desde ser casi normales hasta falta casi total en algunos pacientes. Los datos bioquímicos incluyen una acumulación de ácidos grasos de cadena muy larga, anormalidades de las síntesis de ácidos biliares, así como una notoria disminución de los plasmalógenos. Parece que la enfermedad se debe a **mutaciones** en genes que codifican para ciertas proteínas —denominadas **peroxinas**— involucradas en varios pasos de la **biogénesis de peroxisoma** (como la importación de proteínas antes descrita), o en genes que codifican para ciertas enzimas peroxisómicas por sí mismos. Dos enfermedades estrechamente vinculadas son la **adrenoleucodistrofia neonatal** y la **enfermedad de Refsum infantil**. El síndrome de Zellweger y estas dos enfermedades re-

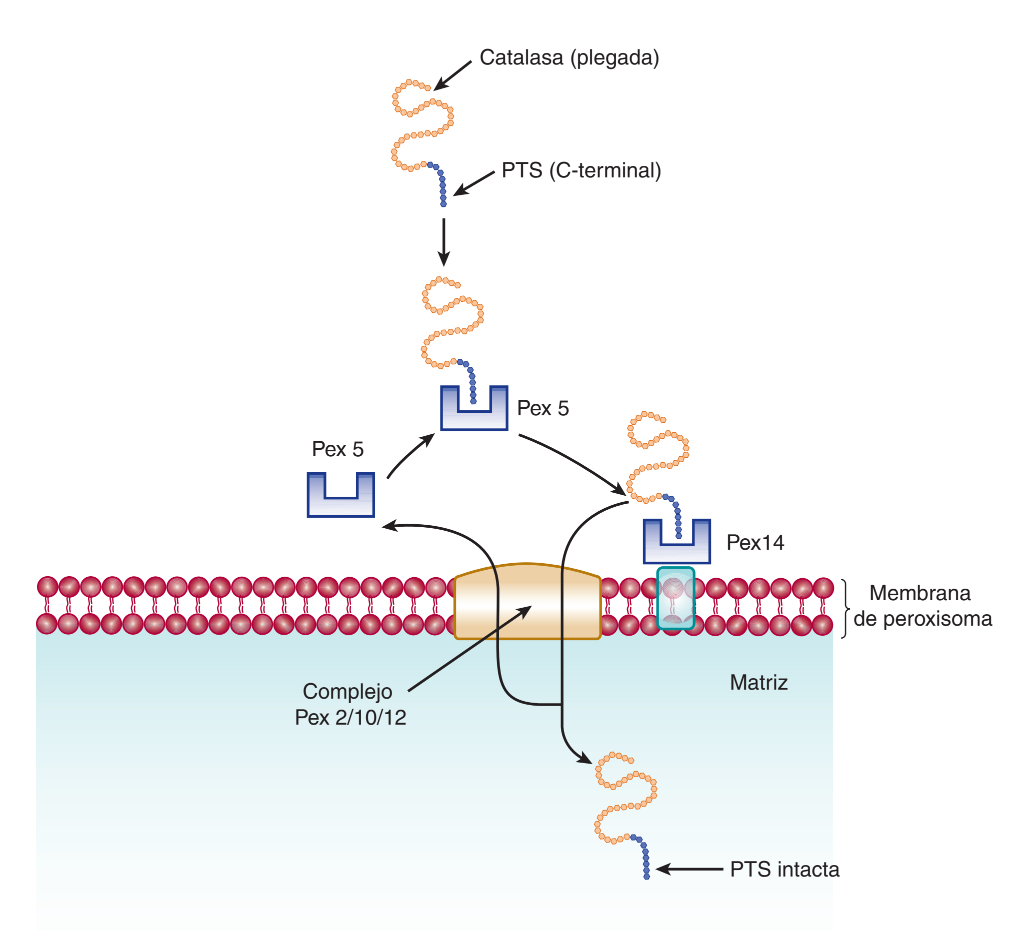


FIGURA 46–5 **Representación esquemática de la entrada de una proteína hacia la matriz peroxisómica.** La proteína que se va a importar hacia la matriz se sintetiza en polirribosomas citosólicos, adopta su forma plegada antes de la importación, y contiene una secuencia de dirección peroxisómica (PTS) C terminal. Interactúa con la proteína receptora citosólica Pex 5, y el complejo a continuación interactúa con un receptor sobre la membrana peroxisómica, Pex 14. A su vez, el complejo de proteína-Pex 14 pasa hacia el complejo de Pex 2/10/12 en la membrana peroxisómica y se transloca. Pex 5 se regresa hacia el citosol. La proteína retiene su PTS en la matriz. (Modificada, con autorización, de Lodish H, *et al*.: *Molecular Cell Biology*, 6th ed. W.H. Freeman & Co., 2008.)

CUADRO 46–3 Trastornos debidos a anormalidades de peroxisomas

	Número de OMIM[1]
Síndrome de Zellweger	214100
Adrenoleucodistrofia neonatal	202370
Enfermedad de Refsum infantil	266510
Acidemia hiperpipecólica	239400
Condrodisplasia rizomélica punteada	215100
Adrenoleucodistrofia	300100
Seudoadrenoleucodistrofia neonatal	264470
Seudosíndrome de Zellweger	261515
Hiperoxaluria tipo I	259900
Acatalasemia	115500
Deficiencia de glutaril-CoA oxidasa	231690

Fuente: Reproducido, con autorización, de Seashore MR, Wappner RS: *Genetics in Primary Care & Clinical Medicine.* Appleton & Lange, 1996.
[1] OMIM = *Online Mendelian Inheritance in Man.* Cada número especifica una referencia en la cual puede hallarse información en cuanto a cada una de las enfermedades anteriores.

presentan un **espectro** de características que se superponen; el síndrome de Zellweger es el **más grave** (afección de muchas proteínas) y la enfermedad de Refsum infantil es la menos grave (sólo una o algunas proteínas afectadas). El **cuadro 46-3** lista estas enfermedades y otras enfermedades relacionadas.

LA HIPÓTESIS DE LA SEÑAL EXPLICA CÓMO SE UNEN LOS POLIRRIBOSOMAS AL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO

Como se mencionó, la **rama del ER rugoso** es la segunda de las dos ramas involucradas en la síntesis de proteínas y la distribución de las mismas. En esta rama, las proteínas son sintetizadas en **polirribosomas unidos a membrana**, y por lo general son **translocadas hacia la luz** del ER rugoso antes de distribución adicional (figura 46-2). Empero, ciertas proteínas de membrana son transferidas directamente hacia la membrana del ER sin llegar a su luz.

La **hipótesis de la señal** fue propuesta por Blobel y Sabatini en 1971, en parte para explicar la distinción entre polirribosomas libres y unidos a membrana. Con base en ciertos datos experimentales, propusieron que las proteínas sintetizadas en polirribosomas unidos a membrana contenían una extensión peptídica N terminal (**péptido señal N terminal**) que mediaba su fijación a las membranas del ER, y facilitaba la transferencia hacia la luz del ER. Por otro lado, las proteínas cuya síntesis completa ocurre en polirribosomas libres carecerían de este péptido señal. Un aspecto importante de la hipótesis de la señal fue que sugirió —como resulta ser el caso— que **todos los ribosomas tienen la misma estructura**, y que la distinción entre ribosomas unidos a membrana y libres depende únicamente de que los primeros transportan proteínas que tienen péptidos señal. Dado que muchas proteínas de membrana son sintetizadas en polirribosomas unidos a membrana, la hipótesis de la señal desempeña un papel importante en los **conceptos de montaje de membrana**. En el **cuadro 46-4** se resumen algunas **características de los péptidos señal** N terminal.

CUADRO 46–4 Algunas propiedades de los péptidos señal que dirigen proteínas al ER

- Por lo regular están localizados en el amino terminal
- Contienen de 12 a 35 aminoácidos
- La metionina por lo general es el aminoácido amino terminal
- Contienen una agrupación central de aminoácidos hidrofóbicos (~6 a 12)
- La región cercana al N terminal suele acarrear una carga positiva neta
- El residuo aminoácido en el sitio de división es variable, pero los residuos –1 y –3 relativos al sitio de división deben ser pequeños y neutros

Hay mucha **evidencia para apoyar** la hipótesis de la señal, lo que confirma que el péptido señal N terminal está involucrado en el proceso de translocación a través de la membrana del ER. Por ejemplo, proteínas mutantes que contienen péptidos señal alterados, en las cuales aminoácidos hidrofóbicos son remplazados por aminoácidos hidrofílicos, no son insertadas en la luz del ER. Las proteínas no de membrana (p. ej., globina α) a las cuales se han fijado péptidos señal mediante ingeniería genética se pueden insertar en la luz del ER, o incluso secretar.

Se han revelado muchos detalles del proceso de translocación hacia el ER

Desde la formulación original de la hipótesis de la señal, muchos científicos han contribuido a revelar detalles del proceso general de translocación de proteínas nacientes a través de la membrana del ER hacia su luz. En el **cuadro 46-5** se listan algunos componentes principales del proceso general, y en la **figura 46-6** se resumen pasos importantes en dicho proceso.

***Paso 1*:** la secuencia señal surge a partir del ribosoma y se une a la partícula de reconocimiento de señal (SRP). Esto suspende temporalmente el alargamiento adicional de la cadena polipeptídica (paro del alargamiento) después de que se han polimerizado alrededor de 70 aminoácidos.

***Paso 2*:** el complejo de SRP-ribosoma-proteína naciente viaja a la membrana del ER, donde se une al receptor de SRP

CUADRO 46–5 Principales componentes que intervienen en la translocación de ER

- Péptido de señal N terminal
- Polirribosomas
- SRP, partícula de reconocimiento de señal
- SR, receptor de partícula de reconocimiento de señal
- Sec 61, el translocón
- Peptidasas de señal
- Proteínas asociadas (p. ej., TRAM y TRAP)

TRAM, cadena translocada asociada a proteína de membrana; TRAP, complejo proteínico asociado a translocón; TRAM acelera la translocación de ciertas proteínas. La función de TRAP no está clara.

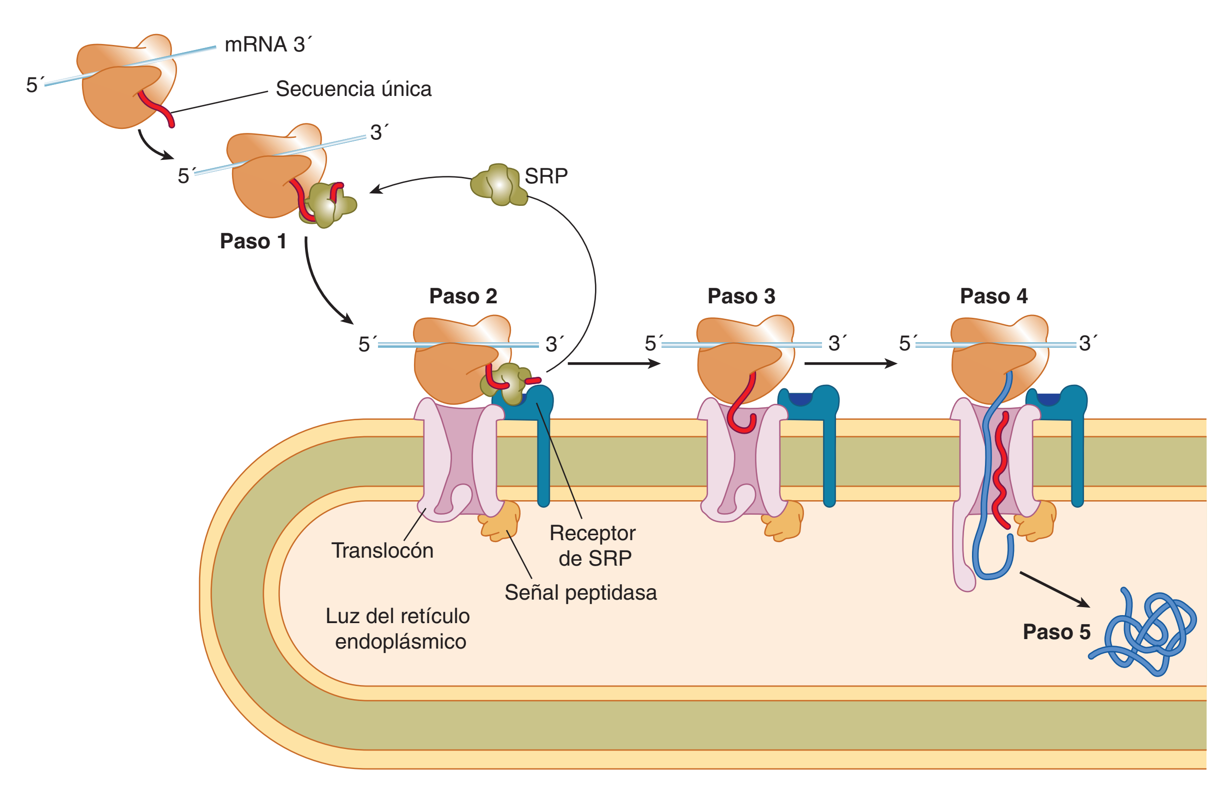


FIGURA 46–6 Direccionamiento cotraduccional de proteínas secretoras hacia el ER. Paso 1: a medida que la secuencia señal surge del ribosoma, es reconocida y unida por la partícula de reconocimiento de señal (SRP). **Paso 2:** la SRP escolta el complejo a la membrana del ER donde se une al receptor de SRP (SRP-R). **Paso 3:** la SRP es liberada, el ribosoma se une al translocón, y la secuencia señal es insertada en el canal de membrana. **Paso 4:** la secuencia señal abre el translocón. Se reanuda la traducción, y la cadena polipeptídica en crecimiento es translocada a través de la membrana. **Paso 5:** la división de la secuencia de señal por la señal peptidasa libera el polipéptido hacia la luz del ER. Reproducida, con autorización, de Cooper GM, Hausman RE: *The Cell: A Molecular Approach*. Sinauer Associates, Inc. 2009.

(SRP-R). La SRP guía el complejo hacia el SRP-R, lo que evita expulsión prematura del polipéptido que está creciendo hacia el citosol.

***Paso 3*:** la SRP es liberada, se reanuda la traducción, el ribosoma se une al translocón (complejo Sec61), y el péptido señal se inserta en el canal en el translocón. Puesto que aún está ocurriendo traducción, la entrada del péptido señal al translocón y su paso adicional se denominan **translocación cotraduccional**.

***Paso 4*:** el péptido señal induce abertura del canal en el translocón mediante unión a ciertos residuos hidrofóbicos en él, lo que hace que el tapón (que se muestra en la parte inferior en el translocón en la figura 46-6) se mueva. El polipéptido en crecimiento a continuación es translocado por completo a través de la membrana, impulsado por su síntesis continua.

***Paso 5*:** ocurre división del péptido señal por la señal peptidasa, y el polipéptido/proteína translocado por completo es liberado hacia la luz del ER. El péptido señal probablemente es degradado por proteasas. Se liberan ribosomas desde la membrana del ER y se disocian hacia sus dos tipos de subunidades.

En levaduras, muchas proteínas son dirigidas hacia el ER después de que se completa su traducción (**translocación postraduccional**) mediante un proceso que no requiere la SRP. Involucra chaperones citosólicos (como Hsp70) para mantener la proteína desplegada, y el chaperón luminal BiP, que puede “tirar” del polipéptido en crecimiento hacia la luz del ER. Algunas proteínas de mamífero también pasan por este proceso.

Comentarios adicionales sobre SRP, receptor de SRP, GTP, Sec61 y glucosilación

La partícula de reconocimiento de señal (SRP) contiene **seis proteínas**, y tiene un **RNA 7S** asociado con ella, que está estrechamente relacionado con la familia Alu de secuencias de DNA altamente repetidas (cap. 35). Tanto la molécula de RNA como sus proteínas desempeñan diversos papeles (como la unión a otras moléculas) en su función.

El **receptor de SRP** (**SRP-R**) es una proteína de membrana del ER compuesta de **subunidades α** y **β**; esta última abarca la membrana del ER.

La SRP y las dos subunidades del SRP-R pueden unirse a **GTP**. Tanto la SRP como el SRP-R deben estar como GTP para que interactúen. Cuando se unen, se estimula la hidrólisis de GTP, se libera SRP, y el ribosoma se une al translocón, lo que permite que el péptido señal entre a éste. La SRP y el SRP-R actúan como proteínas aceleradoras de GTPasa (GAP). Cuando el GTP es hidrolizado hacia GDP, se **disocian**. La SRP y el SRP-R pueden considerarse **casamenteros moleculares**. La SRP capta el ribosoma con su cadena naciente y péptido señal expuesto, y el SRP-R se asocia con el poro translocón vacío, probablemente por medio de su subunidad β. El resultado general de su interacción es llevar el ribosoma al translocón.

El **translocón** consta de tres proteínas de membrana (el **complejo Sec61**) que forman un **canal conductor de proteína**

en la membrana del ER a través del cual la proteína recién sintetizada puede pasar. Como se mencionó, el canal **parece sólo estar abierto cuando está presente un péptido señal**, lo que preserva la conductancia a través de la membrana del ER cuando se cierra. La conductancia del canal se ha medido experimentalmente. El cierre del canal cuando se están translocando proteínas evita que iones como calcio y otras moléculas escapen a través de él, y causen disfunción celular.

La inserción del péptido señal hacia el canal conductor, mientras el otro extremo de la proteína original aún está fija a ribosomas, se llama **inserción cotraduccional**. El proceso de alargamiento de la porción restante de la proteína que se está sintetizando probablemente facilita el paso de la proteína naciente a través de la bicapa lipídica. Tiene importancia que las proteínas se mantengan en un **estado no plegado** antes de que entren al canal conductor, de otro modo pueden ser incapaces de tener acceso al canal.

Las **proteínas secretoras** y las **proteínas solubles destinadas para orgánulos distales al ER** cruzan por completo la bicapa de membrana y son descargadas hacia la luz del ER. Muchas proteínas secretoras están *N*-glucosiladas. **Cadenas de *N*-glucano**, si están presentes, son añadidas por la enzima oligosacárido:proteína transferasa (cap. 47) conforme estas proteínas cruzan la parte interna de la membrana del ER —proceso llamado **glucosilación cotraduccional**—. Después, estas glucoproteínas se encuentran en la **luz del aparato de Golgi**, donde ocurren cambios adicionales en las cadenas de glucano (figura 47-9) antes de distribución intracelular o secreción.

En contraste, las proteínas embebidas en **membranas del ER**, así como en **otras membranas** a lo largo de la vía secretora sólo se **translocan parcialmente** a través de la membrana del ER (véase más adelante). Son capaces de insertarse en la membrana del ER mediante transferencia lateral a través de la pared del translocón.

Hay evidencia de que la membrana del ER está involucrada en el **transporte retrógrado** de diversas moléculas desde la luz del ER **hacia el citosol**. Estas moléculas comprenden glucoproteínas no plegadas o con plegamiento erróneo, glucopéptidos y oligosacáridos. Al menos algunas de estas moléculas son **degradadas en proteasomas** (véase más adelante). No está clara la participación del translocón en la retrotranslocación; pueden estar involucrados uno o más de otros canales. Cualquiera que sea el caso, hay **tráfico bidireccional** a través de la membrana.

LAS PROTEÍNAS SIGUEN VARIAS RUTAS PARA INSERTARSE EN LAS MEMBRANAS DEL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO, O PARA FIJARSE A LAS MISMAS

Las rutas que siguen las proteínas que se van a insertar en las membranas del ER son las siguientes.

Inserción cotraduccional

La **figura 46-7** muestra diversos modos en los cuales las proteínas se distribuyen en la membrana plasmática. En particular, puede observarse que los **amino terminales** de ciertas proteínas (p. ej., el receptor de LDL) están en la cara extracitoplásmica, mientras que para otras proteínas (p. ej., el receptor de asialoglucoproteína) los **carboxilo terminales** se encuentran en esta cara. Para explicar estas disposiciones, es necesario considerar los eventos biosintéticos iniciales en la membrana del ER. El **receptor de LDL** entra en la membrana y el ER de una manera análoga a una proteína secretora (figura 46-6); atraviesa en parte la membrana del ER, su péptido señal se divide, y su amino terminal sobresale hacia la luz (véase también la figura 46-13). Con todo, se retiene en la membrana porque contiene un segmento muy hidrofóbico, la señal de suspensión o cese de transferencia (comparar con la **figura 46-8**). Esta secuencia forma el segmento transmembrana único de la proteína y su dominio de fijación a la membrana. El pequeño parche de membrana del ER en el cual está localizado el receptor de LDL recién sintetizado después **brota** como un componente de una **vesícula de transporte**. Como se describe más adelante en la exposición sobre asimetría de proteínas y lípidos en montaje de membrana, la disposición del receptor en la membrana del ER está preservada en la vesícula (figura 46-13), que finalmente se fusiona con la membrana plasmática. En contraste, el **receptor de asialoglucoproteína** carece de un péptido de señal N terminal divisible, pero posee una secuencia de inserción interna, que se inserta en la membrana pero no se divide. Esto actúa como un ancla, y su carboxilo terminal muestra extrusión a través de la membrana. La disposición más compleja de los **transportadores** (p. ej., para glucosa) puede explicarse porqué las hélices α transmembrana

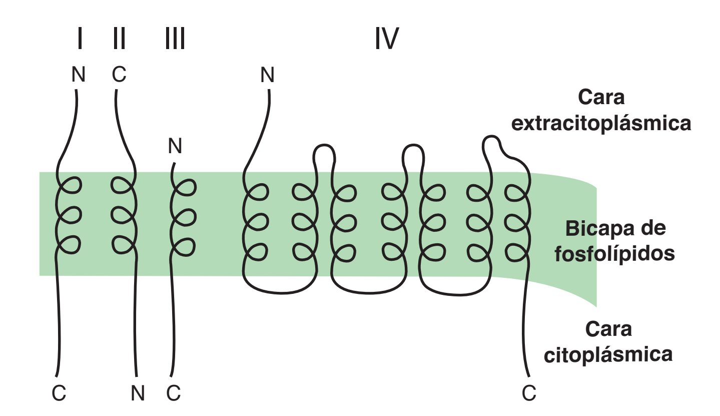


FIGURA 46–7 Variaciones de la manera en la cual se insertan proteínas en membranas. Esta representación esquemática, que ilustra varias orientaciones posibles, muestra los segmentos de las proteínas dentro de la membrana como hélices α, y los otros segmentos como líneas. Las orientaciones se forman inicialmente en la membrana del ER. Las proteínas transmembrana tipo I (p. ej., el receptor de LDL y la hemaglutinina de la gripe) cruzan la membrana una vez y tienen sus amino terminales en la cara exterior de la membrana. Las proteínas transmembrana tipo II (p. ej., la asialoglucoproteína y los receptores de transferrina) también cruzan la membrana una vez, pero tienen sus C terminales en la cara exterior. Las proteínas transmembrana tipo III (p. ej., citocromo P450) tienen una disposición similar a las proteínas tipo I, pero no contienen un péptido señal que se pueda dividir. Las proteínas de membrana tipo IV (p. ej., receptores acoplados a proteína G y transportadores de glucosa) cruzan la membrana varias veces (7 veces para la primera y 12 veces para los transportadores de glucosa); también se llaman proteínas de membrana politópicas. (C, carboxilo terminal; N, amino terminal.) (Adaptada, con autorización, de Wickner WT, Lodish HF [1985], "Multiple mechanisms of protein insertion into and across membranes". Science 230:400. Reimpresa, con autorización de AAAS.)

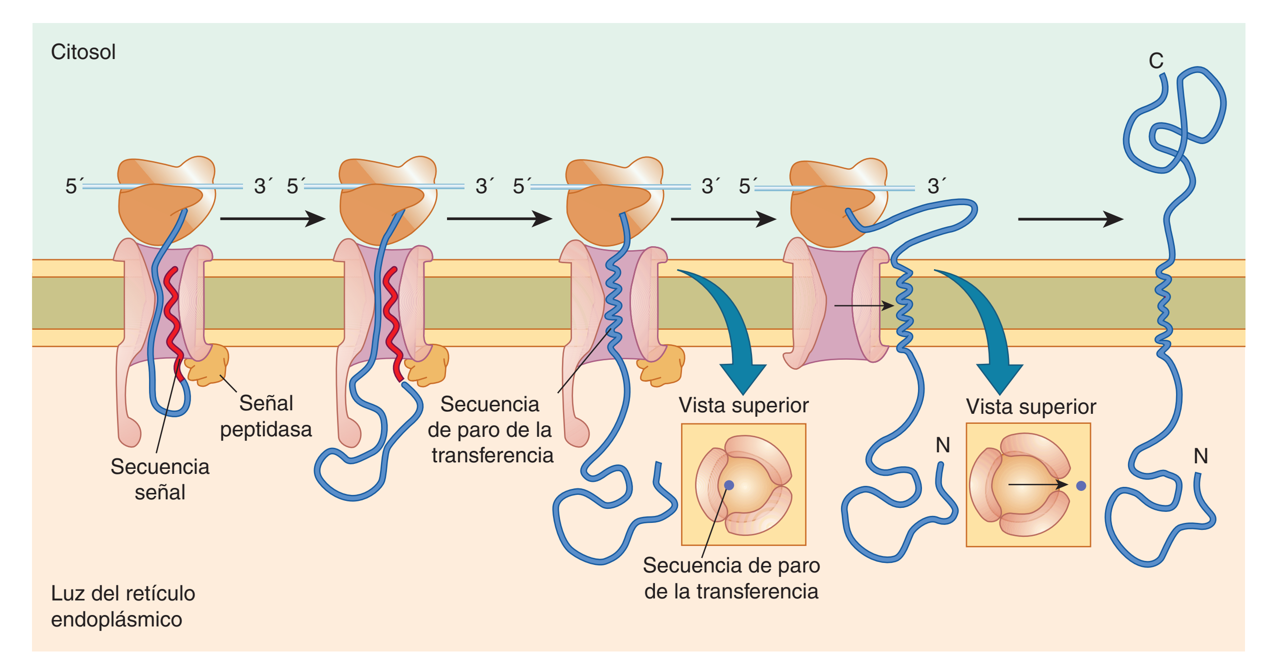


FIGURA 46–8 Inserción de una proteína de membrana con una secuencia de señal separable y una secuencia de paro de transferencia única. La secuencia señal es separada conforme la cadena polipeptídica cruza la membrana, de modo que el amino terminal de la cadena polipeptídica es expuesto en la luz del ER. Con todo, la translocación de la cadena polipeptídica a través de la membrana se suspende cuando el translocón reconoce una secuencia de paro de transferencia transmembrana. Esto cierra el translocón y permite que la proteína salga del canal lateralmente y quede anclada en la membrana del ER. La traducción continua da por resultado una proteína que abarca la membrana, con su carboxilo terminal en el lado citosólico. Reproducida, con autorización, de Cooper GM, Hausman RE: *The Cell: A Molecular Approach*. Sinauer Associates, Inc. 2009.

alternantes actúan como secuencias de inserción no divididas y como señales de suspensión de transferencia, respectivamente. Cada par de segmentos helicoidales se inserta como una horquilla. Las secuencias que determinan la estructura de una proteína en una membrana se llaman **secuencias topogénicas**. Las tres proteínas anteriores son ejemplos de proteínas transmembrana tipos I, II y IV, en tanto que la **citocromo P450** es un miembro del tipo III (figura 46-7).

Síntesis en polirribosomas libres y fijación postraduccional a la membrana del retículo endoplásmico

Un ejemplo es el **citocromo b_5**, que parece entrar de manera directa en la membrana del ER después de la traducción, ayudado por varios chaperones.

Otras rutas comprenden retención en el aparato de Golgi (GA), con recuperación al ER, y transporte retrógrado desde el GA

Varias proteínas poseen la secuencia de aminoácidos **KDEL** (Lis-Asp-Glu-Leu) en su carboxilo terminal (cuadro 46-1). Las proteínas que contienen KDEL primero viajan al **GA** en vesículas de transporte COPII (véase más adelante) e interactúan ahí con una proteína receptora de KDEL específica que las retiene de manera transitoria. A continuación **regresan en vesículas de transporte COPI al ER**, donde se disocian del receptor y, así, son recuperadas. Las secuencias HDEL (H = histidina) sirven para un propósito similar. Los procesos anteriores dan lugar a localización neta de ciertas proteínas solubles a la luz del ER.

Algunas otras **proteínas que no contienen KDEL** también pasan al aparato de Golgi y después regresan, mediante **transporte vesicular retrógrado**, al ER para ser insertadas ahí. Éstas incluyen componentes de vesícula que deben reciclarse, así como ciertas proteínas de la membrana del ER. Estas proteínas a menudo poseen una señal C terminal ubicada en el citosol rica en residuos básicos.

Los párrafos anteriores demuestran que **diversas rutas** participan en el montaje de las proteínas de las membranas del ER; una situación similar probablemente ocurre para otras membranas (p. ej., las membranas mitocondriales y la membrana plasmática). En algunos casos se han identificado secuencias de dirección precisas (p. ej., secuencias KDEL).

El tema de la biogénesis de membrana se comenta más adelante en este capítulo.

LOS CHAPERONES SON PROTEÍNAS QUE IMPIDEN EL PLEGADO DEFECTUOSO E INTERACCIONES NO PRODUCTIVAS DE OTRAS PROTEÍNAS

Ya se hizo referencia a los **chaperones moleculares** en este capítulo. El **cuadro 46-6** lista varias propiedades importantes de estas proteínas y en el **cuadro 46-7** se encuentran los nombres de algunas de importancia especial en el ER. Básicamente, **estabili-**

CUADRO 46–6 Algunas propiedades de proteínas chaperón

• Están presentes en una amplia gama de especies, desde bacterias hasta seres humanos
• Muchas son las llamadas proteínas de choque por calor (Hsp)
• Algunas son inducibles por condiciones que ocasionan desdoblamiento de proteínas recién sintetizadas (p. ej., temperatura alta y diversas sustancias químicas)
• Se unen a regiones predominantemente hidrofóbicas de proteínas desdobladas e impiden su agregación
• Actúan en parte como un control de calidad o mecanismo de edición para detectar proteínas plegadas de modo erróneo o por lo demás defectuosas
• Casi todos los chaperones muestran actividad de ATPasa asociada; el ATP o ADP está involucrado en la interacción entre proteína y chaperón
• Se encuentran en diversos compartimientos celulares, como el citosol, las mitocondrias y la luz del retículo endoplásmico

zan intermediarios no plegados o plegados de manera parcial, lo que les otorga tiempo para plegarse de manera apropiada, y evitan interacciones inapropiadas; ello combate la formación de estructuras no funcionales. Casi todos los chaperones muestran **actividad de ATPasa** y se unen a ADP y ATP. Esta actividad tiene importancia para su efecto sobre el plegado de proteína. El complejo de ADP-chaperón a menudo tiene afinidad alta por la proteína no plegada, que, cuando se une, estimula la liberación de ADP con remplazo por ATP. El complejo de ATP-chaperón, a su vez, libera segmentos de la proteína que se han plegado de modo apropiado, y el **ciclo** que involucra unión de ADP y ATP se repite hasta que se libera la proteína.

Las **chaperoninas** son la segunda clase importante de chaperones. Forman **estructuras tipo barril** complejas en las cuales una proteína no plegada es secuestrada lejos de otras proteínas, lo que les da tiempo y condiciones idóneas en las cuales plegarse de manera apropiada. La estructura de la chaperonina bacteriana GroEL se ha estudiado con detalle. Es polimérica, tiene dos estructuras tipo anillo, cada una compuesta de siete subunidades idénticas y, de nuevo, el ATP está involucrado en su acción.

Cuando se comentó la clasificación de proteínas mitocondriales se presentaron varios ejemplos de chaperones. La **proteína de unión (BiP) a la cadena pesada de inmunoglobulina** está ubicada en la luz del ER. Esta proteína **promueve el plegado apropiado al impedir la agregación** y se unirá de manera temporal a cadenas pesadas de inmunoglobulina y muchas otras proteínas plegadas de modo anormal, evitando que abandonen el ER. Otro chaperón importante es la **calnexina**, una proteína de unión a calcio localizada en la membrana del ER. Esta proteína se une a una amplia variedad de proteínas, entre ellas antígenos del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) y diversas proteínas plasmáticas. Como se describe en el capítulo 47, la calnexina se une a la especie monoglucosilada de glucoproteínas que surge durante el procesamiento de estas últimas, y las retiene en el ER hasta que la glucoproteína se ha plegado de manera apropiada. La **calreticulina**, que también es una proteína de unión a calcio, tiene propiedades similares a las de la calnexina; no está unida a membrana. Los chaperones no son las únicas proteínas en la luz del ER que se encargan del plegado apropiado de proteínas. Hay dos **enzimas** que tienen una función activa en el plegado. La **proteína disulfuro isomerasa (PDI)** promueve la

CUADRO 46–7 Algunos chaperones y enzimas involucrados en el plegado, que están localizados en el retículo endoplásmico rugoso

• BiP (proteína de unión a cadena pesada de inmunoglobulina)
• GRP94 (proteína regulada por glucosa)
• Calnexina
• Calreticulina
• PDI (proteína disulfuro isomerasa)
• PPI (peptidil prolil *cis-trans* isomerasa)

formación rápida de enlaces disulfuro, y la formación y rotura sucesivas de los mismos, hasta que se logra el juego correcto. La **peptidil prolil isomerasa (PPI)** acelera el plegado de proteínas que contienen prolina al catalizar la isomerización *cis-trans* de enlaces X-Pro, donde X es cualquier residuo aminoácido.

Así, el ER funciona como un **compartimiento de control de calidad** de la célula. Las proteínas recién sintetizadas intentan plegarse con ayuda de chaperones y enzimas de plegamiento, y los chaperones vigilan su estado de plegamiento. Las proteínas que muestran plegamiento erróneo o incompleto interactúan con chaperones, que las retienen en el ER y evitan que sean exportadas hacia sus destinos finales. Si esas interacciones continúan durante un periodo prolongado, las proteínas que muestran plegamiento erróneo por lo general son desechadas mediante degradación asociada con el retículo endoplásmico (ERAD, véase más adelante). Esto evita una acumulación peligrosa de proteínas con plegamiento erróneo. En varias enfermedades genéticas, como la fibrosis quística (cap. 57), ocurre retención de proteínas que muestran plegamiento erróneo en el ER. En algunos casos, las proteínas retenidas aún muestran cierta actividad funcional. Como se comenta más adelante en este capítulo, hay mucho interés por encontrar fármacos que interactúen con esas proteínas y promuevan su plegamiento correcto y exportación hacia afuera del ER.

LA ACUMULACIÓN DE PROTEÍNAS PLEGADAS DE MODO ERRÓNEO EN EL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO PUEDE INDUCIR LA RESPUESTA A PROTEÍNAS DESDOBLADAS (UPR)

El mantenimiento de la **homeostasis en el ER** es importante para la función celular normal. La perturbación del ambiente singular dentro de la luz del ER (p. ej., cambios en el Ca^{2+} del ER, alteraciones del estado redox, exposición a diversas toxinas o algunos virus) puede llevar a decremento de la capacidad de plegado de proteína y acumulación de proteínas plegadas de manera errónea. La acumulación de estas últimas en el ER se denomina **estrés del ER**. La célula ha adquirido por evolución un mecanismo llamado UPR para detectar las concentraciones de proteínas plegadas de modo erróneo e iniciar mecanismos de emisión de señales intracelulares para compensar las condiciones de estrés y restituir la homeostasis del ER. La UPR se inicia por sensores de estrés del ER, que son proteínas transmembrana

incrustadas en la membrana del ER. La activación de estos sensores de estrés origina tres efectos principales: i) inhibición transitoria de la traducción para aminorar la cantidad de proteínas recién sintetizadas, ii) inducción de una respuesta transcripcional que conduce a aumento de la expresión de chaperones del ER y iii) aumento de la síntesis de proteínas involucradas en la degradación de proteínas del ER plegadas de manera errónea (véase más adelante). En consecuencia, la UPR incrementa la capacidad de plegado en el ER e impide la acumulación de productos proteínicos improductivos y en potencia tóxicos, además de otras respuestas para restituir la homeostasis celular. No obstante, si persiste el deterioro del plegado, se activan vías de muerte celular (apoptosis). Una comprensión más completa de la UPR probablemente proporcione nuevos métodos para tratar enfermedades en las cuales ocurren estrés del ER y plegado defectuoso de proteína (**cuadro 46-8**).

LAS PROTEÍNAS QUE MUESTRAN PLEGAMIENTO ERRÓNEO PASAN POR DEGRADACIÓN ASOCIADA CON EL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO

Las proteínas con plegamiento erróneo ocurren en muchas enfermedades genéticas (cuadro 46-8). Las proteínas que se pliegan de modo erróneo en el ER son **transportadas** de manera selectiva **de regreso a través del ER** (**retrotranslocación o dislocación**) para que entren en **proteasomas** presentes en el citosol. Todavía se está investigando la ruta precisa por la cual las proteínas que muestran plegamiento erróneo pasan de regreso a través de la membrana del ER. Dos proteínas han quedado implicadas: el complejo Sec61 antes descrito, y la Derlina 1. La energía para la translocación parece ser proporcionada al menos en parte por **p97**, una AAA-ATPasa (una de una familia de **A**TPasas **A**sociadas con diversas **A**ctividades celulares). Los **chaperones** presentes en la luz del ER (p. ej., BiP) y en el citosol ayudan a dirigir proteínas plegadas de manera errónea hacia proteasomas. Antes de entrar a estos últimos, casi todas las proteínas pasan por **ubiquitinación** (véase el párrafo siguiente) y son acompañadas hacia proteasomas por proteínas de unión a poliubiquitina. Las ubiquitina ligasas están presentes en la membrana del ER. El proceso anterior se denomina ERAD y se describe brevemente en la **figura 46-9**.

LA UBIQUITINA ES UNA MOLÉCULA CLAVE EN LA DEGRADACIÓN DE PROTEÍNA

Hay dos vías importantes de degradación de proteínas en eucariotas. Una comprende **proteasas lisosómicas** y no requiere ATP. La otra vía incluye **ubiquitina** y es dependiente de ATP. Tiene una función importante en la degradación de proteínas, y se asocia en particular con la **eliminación de proteínas plegadas de modo erróneo, y con enzimas reguladoras que tienen vida media breve**. La investigación sobre la ubiquitina se ha expandido con rapidez, y se sabe que está involucrada en la **regulación del ciclo celular** (degradación de ciclinas), **reparación del DNA**, **activación del NFκB** (cap. 50), **emaciación muscular**, **infecciones virales**, y **muchos otros** procesos fisiológicos y patológicos importantes. La ubiquitina es una **proteína pequeña** (76 aminoácidos), **muy conservada**, que desempeña una función clave en el **marcado** de diversas proteínas para **degradación en proteasomas** subsiguiente. La **figura 46-10** muestra el mecanismo de fijación de la ubiquitina a una proteína blanco (p. ej., una forma de CFTR plegada de manera errónea, la proteína involucrada en el origen de la fibrosis quística; caps. 40 y 57), y comprende **tres enzimas**: una **enzima activadora**, una **enzima conjugadora** y una **ligasa**. Hay varios tipos de enzimas conjugadoras y, de manera sorprendente, algunos cientos de ligasas diferentes. Es esta última enzima la que confiere especificidad de sustrato. Una vez que la molécula de ubiquitina está fija a la proteína, varias otras también se fijan, lo que da por resultado

CUADRO 46–8 Algunas enfermedades conformacionales causadas por anormalidades del transporte intracelular de proteínas y enzimas específicas debidas a mutaciones[1]

Enfermedad	Proteína afectada
Deficiencia de α_1-antitripsina con enfermedad del hígado (OMIM 107400)	α_1-Antitripsina
Síndrome de Chédiak-Higashi (OMIM 214500)	Regulador del tráfico lisosómico
Deficiencia combinada de factores V y VIII (OMIM 227300)	ERGIC53, una lectina de unión a manosa
Fibrosis quística (OMIM 219700)	CFTR
Diabetes mellitus (algunos casos) (OMIM 147670)	Receptor de insulina (subunidad α)
Hipercolesterolemia familiar, autosómica dominante (OMIM 143890)	Receptor de LDL
Enfermedad de Gaucher (OMIM 230800)	β-glucosidasa
Hemofilia A (OMIM 306700) y B (OMIM 306900)	Factores VIII y IX
Hemocromatosis hereditaria (OMIM 235200)	HFE
Síndrome de Hermansky-Pudlak (OMIM 203300)	Subunidad β3A del complejo adaptador AP-3
Enfermedad de célula I (OMIM 252500)	*N*-acetilglucosamina 1-fosfotransferasa
Síndrome oculocerebrorrenal de Lowe (OMIM 309000)	PIP_2 5-fosfatasa
Enfermedad de Tay-Sachs (OMIM 272800)	β-Hexosaminidasa
Enfermedad de von Willebrand (OMIM 193400)	Factor de von Willebrand

Abreviaturas: PIP_2, fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato.
Nota: Los lectores deben consultar tratados de medicina o pediatría para obtener información sobre las manifestaciones clínicas de las enfermedades listadas.
[1] Véase Schroder M, Kaufman RJ: The Mammalian Unfolded Protein Response. Annu Rev Biochem 2005;74: 739 y Olkonnen V, Ikonen E: Genetic defects of intracellular membrane transport. N Engl J Med 2000;343:10095.

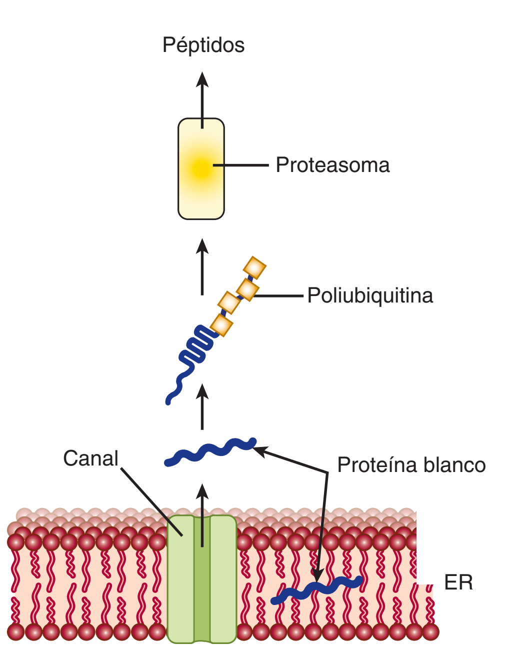


FIGURA 46–9 Esquema simplificado de los eventos en la degradación asociada con el retículo endoplásmico (ERAD). Una proteína blanco que muestra plegamiento erróneo pasa por transporte retrógrado a través de la membrana del ER hacia el citosol, donde queda sujeta a poliubiquitinación. Después de la poliubiquitinación, entra en un proteasoma, dentro del cual es degradada hacia péptidos pequeños que salen y pueden tener varios destinos. Las moléculas de ubiquitina liberada son recicladas. Dos proteínas han quedado implicadas en el transporte retrógrado a través del ER: Sec61 (también involucrada en la transferencia de proteínas recién sintetizadas hacia la luz del ER) y otra proteína llamada Derlina 1.

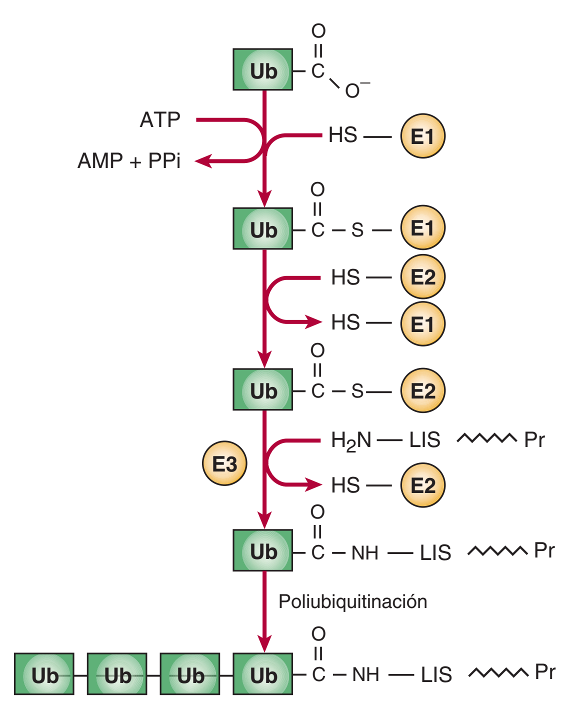


FIGURA 46–10 Secuencia de reacciones además de la ubiquitina hacia una proteína blanco. En la reacción catalizada por E1, el grupo COO⁻ C terminal de ubiquitina está enlazado en un enlace tioéster a un grupo SH de E1. En la reacción catalizada por E2, la ubiquitina activada se transfiere hacia un grupo SH de E2. En la reacción catalizada por E3, la ubiquitina se transfiere desde E2 hacia un grupo ϵ-amino en una lisina de la proteína blanco. A continuación rondas adicionales de ubiquitinación construyen la cadena de poliubiquitina. (Ub, ubiquitina; E1, enzima activadora; E2, enzima conjugadora; E3, ligasa; LIS ^^^^ Pr, proteína blanco.)

una **proteína blanco poliubiquitinada**. Se ha estimado que debe fijarse un **mínimo de cuatro moléculas de ubiquitina** para comprometer a una molécula blanco a degradación en un proteasoma. La ubiquitina se puede **dividir** desde una proteína blanco por medio de **enzimas** que producen desubiquitinación y la ubiquitina liberada se puede volver a emplear.

Las proteínas ubiquitinadas se degradan en proteasomas

Las proteínas blanco poliubiquitinadas entran en los proteasomas, localizados en el citosol. El proteasoma es una **estructura cilíndrica** relativamente **grande**, compuesta por alrededor de **50 subunidades**. El proteasoma tiene un **centro** hueco, y una o dos **cubiertas** que desempeñan una función reguladora. Las proteínas blanco son **desdobladas** por ATPasas presentes en las cubiertas de proteasoma. Los proteasomas pueden hidrolizar una variedad muy amplia de enlaces peptídicos. Las proteínas blanco pasan hacia el centro para degradarse hacia péptidos pequeños, que luego salen del proteasoma (figura 46-9) para ser más degradados por peptidasas citosólicas. Los sustratos para el proteasoma son proteínas plegadas tanto normalmente como de modo anormal. Las moléculas de ubiquitina liberadas se reciclan. El proteasoma desempeña una función importante en la **presentación de péptidos pequeños** producidos por **degradación de diversos virus** y otras **moléculas clase I del MHC**, un paso clave en la presentación de antígeno a linfocitos T.

LAS VESÍCULAS DE TRANSPORTE TIENEN UNA PARTICIPACIÓN CLAVE EN EL TRÁFICO DE PROTEÍNA INTRACELULAR

Las proteínas que se sintetizan en polirribosomas unidos a membrana y destinadas al GA o a la PM alcanzan estos sitios dentro de vesículas de **transporte**. Las vesículas involucradas en el **transporte anterógrado** (COPII) desde el ER hacia el GA, y en el **transporte retrógrado** (COPI) desde el GA hacia el ER están libres de clatrina. Las vesículas de transporte y secretoras que portan carga desde el GA hacia la PM también están libres de clatrina. Las vesículas involucradas en la endocitosis (véanse las exposiciones sobre el receptor de LDL en los capítulos 25 y 26) están cubiertas por clatrina, al igual que ciertas vesículas que llevan carga hacia lisosomas. En aras de la claridad, en este libro se hace referencia a las vesículas que no están cubiertas por clatrina como **vesículas de transporte**. En el **cuadro 46-9** se resumen **los tipos** y **funciones** de las vesículas importantes identificadas hasta la fecha.

El modelo de vesículas de transporte involucra SNARE y otros factores

Las **vesículas** son el quid del transporte intracelular de muchas proteínas. Se ha logrado progreso importante en el entendi-

CUADRO 46–9 Algunos tipos de vesículas y sus funciones

Vesícula	Función
COPI	Participa en el transporte intra-GA y el transporte retrógrado desde el GA hacia el ER
COPII	Participa en la exportación desde el ER hacia el ERGIC o el GA
Clatrina	Participa en el transporte de ubicaciones pos-GA, entre ellas la PM, TGN y endosomas
Vesículas secretoras	Participa en la secreción regulada desde órganos como el páncreas (p. ej., secreción de insulina)
Vesículas del TGN a la PM	Portan proteínas hacia la PM y participan también en la secreción constitutiva

Abreviaturas: GA, aparato de Golgi; ER, retículo endoplásmico; ERGIC, compartimiento intermedio del ER-GA; PM, membrana plasmática; TGN, red *trans*-Golgi.
Nota: Cada vesícula tiene su propio juego de proteínas de cubierta. La clatrina muestra vínculo con diversas proteínas adaptadoras, p. ej., AP-1, AP-2 y AP-3 (AP, proteína adaptadora), GGA-1, GGA-2 y GGA-3 (GGA, dominio de homología de oído adaptina gamma localizador de Golgi, proteína de unión a ARF), lo que forma diferentes tipos de vesículas de clatrina. Estas diversas vesículas de clatrina tienen blancos intracelulares diferentes. Las proteínas de vesículas secretoras y vesículas involucradas en el transporte desde el GA hacia la PM no se encuentran bien caracterizadas; tampoco lo están los mecanismos involucrados en sus formaciones y destinos.

miento de los eventos involucrados en la formación y el transporte de vesículas. Esto ha ocurrido debido al uso de diversos métodos. Han sido cruciales en especial el uso por Schekman y colegas de **métodos genéticos para el estudio** de vesículas en levaduras, y la creación por Rothman y colegas de **sistemas libres de células** para estudiar la formación de vesículas. Por ejemplo, mediante microscopia electrónica es posible observar el brote de vesículas desde preparaciones de Golgi incubadas con citosol, ATP y GTP-γ. El mecanismo general es complejo, tiene su propia **nomenclatura** (**cuadro 46-10**), e incluye diversas proteínas citosólicas y de membrana, GTP, ATP, y factores accesorios. El **brote**, la **atadura**, el **acoplamiento**, y la **fusión de membrana** son pasos clave en los ciclos de vida de vesículas con Sar, ARF, y las Rab GTPasas (véase más adelante) que actúan como **conmutadores moleculares**.

Hay pasos generales comunes en la formación de vesículas de transporte, la dirección de vesículas y la fusión con una membrana blanco, independientemente de la membrana a partir de la cual se forma la vesícula, o su destino intracelular. La naturaleza de las proteínas de cubierta, GTPasas y factores de dirección difiere dependiendo de a partir de dónde se forma la vesícula, y su destino final. El transporte desde el ER hacia el aparato de Golgi es el ejemplo mejor estudiado, y se usará para ilustrar estos pasos. El **transporte vesicular anterógrado** desde el ER hacia el aparato de Golgi comprende **vesículas COPII**, y puede considerarse que el proceso sucede en ocho pasos (**figura 46-11**). El concepto básico es que cada vesícula de transporte lleva una carga específica y una o más proteínas **v-SNARE** que controlan la dirección. Cada membrana blanco porta una o más **proteínas t-SNARE complementarias** con las cuales interactúa la primera, y median la fusión de vesícula-membrana dependiente de proteína SNARE. Las **proteínas Rab** también ayudan a dirigir las vesículas hacia membranas específicas, y están involucradas en la atadura, antes del acoplamiento de vesícula en una membrana blanco.

CUADRO 46–10 Algunos factores involucrados en la formación de vesículas no cubiertas por clatrina y su transporte

- ARF: factor de ribosilación de ADP, una GTPasa involucrada en la formación de vesículas COPI y cubiertas por clatrina.
- Proteínas de cubierta: una familia de proteínas que se encuentra en vesículas cubiertas. Diferentes vesículas de transporte tienen diferentes totales de proteínas de cubierta.
- NSF: factor sensible a NEM, una ATPasa.
- Sar1: una GTPasa que desempeña una función clave en el montaje de vesículas COPII.
- Sec12: un factor de intercambio de nucleótido guanina (GEF) que interconvierte Sar1·GDP y Sar1·GTP.
- α-SNAP: proteína de fijación a NSF soluble. Junto con el NSF, esta proteína participa en la disociación de complejos SNARE.
- SNARE: receptor de SNAP. Las SNARE son moléculas clave en la fusión de vesículas con membranas aceptoras.
- t-SNARE: SNARE blanco.
- v-SNARE: SNARE vesícula.
- Proteínas Rab: una familia de proteínas relacionadas con Ras (GTPasas monoméricas) observada por vez primera en el cerebro de rata. Son activas cuando el GTP está unido. Diferentes moléculas Rab acoplan distintas vesículas a membranas aceptoras.
- Proteínas efectoras Rab: una familia de proteínas que interactúa con moléculas Rab; algunas actúan para atar vesículas a membranas aceptoras.

***Paso 1*:** El **brote** se inicia cuando **Sar1** es activada por la unión a **GTP**, que se intercambia por GDP por medio de la acción de **Sec12**. Esto suscita un cambio conformacional en Sar1·GTP, y produce incrustación del mismo en la membrana del ER para formar un punto focal para el ensamble de vesícula.

***Paso 2*:** Diversas **proteínas de cubierta** se unen a **Sar1·GTP**. A su vez, las proteínas de carga de membrana se unen a las proteínas de cubierta y proteínas de carga solubles dentro de vesículas unidas a regiones receptoras de la primera. Otras proteínas de cubierta se montan para **completar la formación del brote**. Las proteínas de cubierta promueven el brote, contribuyen a la curvatura de brotes, y ayudan también a clasificar proteínas.

***Paso 3*:** El **brote se desprende**, lo que completa la formación de la vesícula cubierta. La curvatura de la membrana del ER y las interacciones entre una proteína y otra, y entre proteína y lípido en el brote, facilitan el desprendimiento desde sitios de salida del ER.

***Paso 4*:** El **desmontaje de cubierta** (que involucra **disociación** de **Sar1** y la **protección** de las proteínas de cubierta) sigue a la **hidrólisis de GTP unido hacia GDP** por Sar1, lo cual es promovido por una proteína de cubierta específica. De esta manera, la Sar1 desempeña funciones clave tanto en el ensamble como en la disociación de las proteínas de cubierta. La eliminación de la cubierta es necesaria para que ocurra fusión.

***Paso 5*:** La **dirección de vesícula** se logra mediante fijación de moléculas **Rab** a vesículas. Las moléculas de Rab·GDP en el citosol se convierten en moléculas Rab·GTP por medio de un factor de intercambio de nucleótido guanina específico (GEF), y éstos se fijan a las vesículas. Las moléculas de Rab·GTP después interactúan con **proteínas efectoras Rab** en membranas para **atar** la vesícula a las membranas.

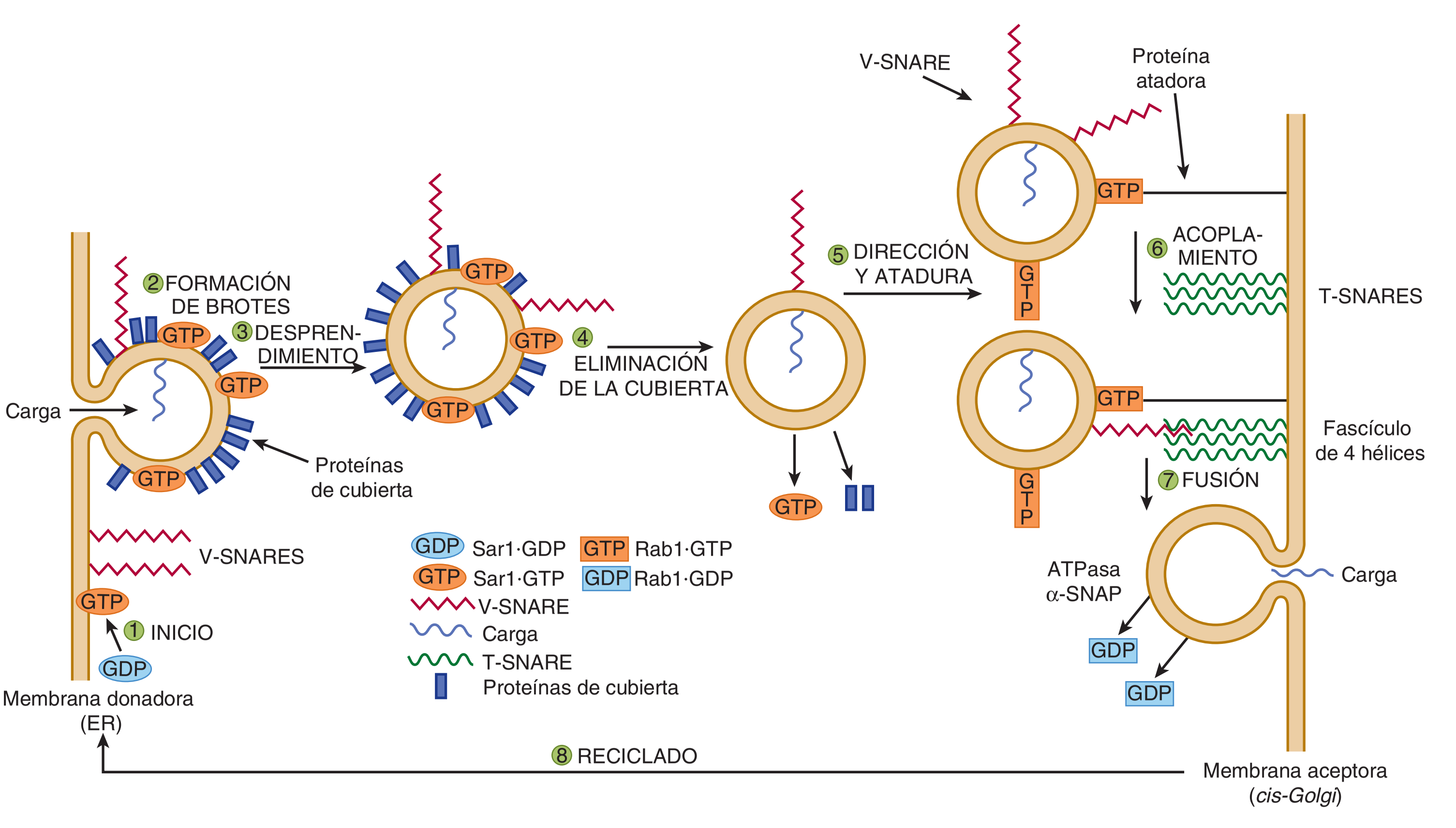


FIGURA 46–11 **Modelo de los pasos en una ronda de transporte anterógrado que involucra vesículas COPII.** El ciclo empieza en el cuadrante inferior izquierdo de la figura, donde una molécula de Sar1 está representada como un óvalo azul que contiene GDP. Los pasos en el ciclo se describen en el texto. Los diversos componentes se describen brevemente en el cuadro 46-8. En esta figura no se abordan las funciones de proteínas Rab efectoras y Rab (véase el texto) en el proceso general. (Adaptada, con autorización, de Rothman JE: Mechanisms of intracellular protein transport. Nature 1994;372:55.)

***Paso 6*: v-SNARE forman pares con t-SNARE cognadas** en la membrana blanco para **acoplar** las vesículas e iniciar fusión. En general una v-SNARE en la vesícula forma pares con tres t-SNARE en la membrana aceptora para formar un **haz de cuatro hélices estrecho**.

***Paso 7*:** La **fusión** de la vesícula con la membrana aceptora sucede una vez que las v-SNARE y t-SNARE están estrechamente alineadas. Luego de fusión de vesícula y liberación del contenido, el GTP se hidroliza hacia GDP, y las moléculas de Rab·GDP se liberan hacia el citosol. Cuando una SNARE sobre una membrana interactúa con una SNARE sobre otra membrana, enlazando las dos membranas, esto se llama un complejo *trans*-SNARE o un alfiler SNARE. Las interacciones de SNARE en la misma membrana forman un complejo *cis*-SNARE. Para **disociar el fascículo de cuatro hélices** entre las v-SNARE y las t-SNARE, de modo que puedan volver a emplearse, se necesitan dos proteínas adicionales. Éstas son una **ATPasa** (NSF) y **α-SNAP**. La NSF hidroliza ATP, y la energía liberada disocia el fascículo de cuatro hélices, lo que hace que las proteínas SNARE estén disponibles para otra ronda de fusión de membrana.

***Paso 8*:** ciertos componentes, como las proteínas Rab y SNARE, son **reciclados** para rondas subsiguientes de fusión de vesículas.

Durante el ciclo anterior, las SNARE, proteínas de atadura, Rab y otras proteínas **colaboran** para llevar una vesícula y su contenido al sitio apropiado.

Las vesículas COPI, COPII, y cubiertas por clatrina se han estudiado más

Los puntos que siguen aclaran y expanden la sección previa.

1. Como se indica en el cuadro 46-9, hay **varios tipos de vesículas**. Quizá quedan por descubrir otros tipos de vesículas. Aquí los autores se enfocan principalmente en vesículas COPII, COPI y cubiertas por clatrina. Cada uno de ellos tiene una totalidad diferente de proteínas en su cubierta. Los detalles del montaje para vesículas COPI y cubiertas por clatrina son un poco diferentes de los antes descritos. Por ejemplo, Sar1 es la proteína involucrada en el paso 1 de la formación de vesículas COPII, mientras que **ARF** está involucrada en la formación de vesículas COPI y cubiertas por clatrina. Comoquiera que sea, los principios que se refieren al montaje de estos tipos diferentes en general son similares.
2. Respecto a la **selección** de moléculas de carga por vesículas, ésta parece ser principalmente **una función de las proteínas de cubierta** de vesículas. Las **moléculas de carga** mediante sus señales de clasificación pueden interactuar con proteínas de cubierta de **manera directa** o por medio de **proteínas intermediarias** que se fijan a proteínas de cubierta, y después quedan encerradas en sus vesículas apropiadas. Se han identificado varias **secuencias de señal** sobre moléculas de carga (cuadro 46-1). Por ejemplo, las secuencias KDEL dirigen ciertas proteínas residentes en el ER en flujo retrógrado hacia el ER en vesículas COPI. Las secuencias diacídicas (p. ej., Asp-X-Glu, X = cualquier aminoácido) y las secuencias hidrofóbicas cortas sobre proteínas de membrana participan en interacciones con proteínas de cubierta de vesículas COPII.

   Las proteínas en las áreas **apical** o **basolateral** de las membranas plasmáticas de células epiteliales polarizadas pueden transportarse hacia estos sitios en **vesículas de transporte** que brotan desde la TGN. Diferentes proteínas Rab probablemente dirigen algunas vesículas hacia regiones apicales, y otras hacia regiones basolaterales. En ciertas células, las proteínas se dirigen primero hacia la membrana basolateral, después pasan por endocitosis y se transportan a través de la célula mediante **transcitosis** hacia la región apical. Aún otro mecanismo para clasificar proteínas hacia la región apical (o en algunos casos hacia la región basolateral) involucra el **ancla glucosilfosfatidilinositol** (**GPI**) descrita en el capítulo 47. Esta estructura también suele estar presente en **balsas de lípido** (cap. 40).

   No todas las moléculas de carga pueden tener una señal de clasificación. Algunas proteínas secretoras muy abundantes viajan hacia diversos destinos celulares en vesículas de transporte por medio de **flujo de masa**; es decir, entran en vesículas de transporte en la misma concentración que la que muestran en el organelo. No se conoce con claridad la extensión precisa del flujo de masa, aunque parece ser que casi todas las proteínas se clasifican de modo activo (se concentran) hacia vesículas de transporte, y sólo un grupo selecto de proteínas de carga usa el flujo de masa.
3. Una vez que las proteínas en la vía secretora llegan al *cis*-Golgi desde el ER en vesículas, pueden viajar a través del GA hacia el *trans*-Golgi en **vesículas**, o por medio de un proceso llamado **maduración de cisternas**, o quizá en algunos casos **difusión** por medio de conexiones intracisterna que se han observado en algunos tipos de células. Una opinión anterior era que el GA es en esencia un organelo estático, que permite el flujo vesicular desde una cisterna estática hacia la siguiente. De cualquier manera, ahora hay evidencia que apoya la opinión de que las cisternas se mueven y se transforman en otra (es decir, maduración de las cisternas). En este modelo, elementos vesiculares del ER se fusionan entre sí para ayudar a formar el *cis*-Golgi que, a su vez, puede avanzar para convertirse en el Golgi medial, etc. Las vesículas COPI regresan enzimas de Golgi (p. ej., glucosiltransferasas) desde cisternas distales del GA hacia cisternas más proximales (p. ej., *cis*).
4. Las vesículas se mueven a través de las células a lo largo de **microtúbulos** o de **filamentos de actina**.
5. El metabolito de hongo **brefeldina A evita que el GTP se una a la ARF** y, así, inhibe la formación de vesículas COPI. En su presencia, el aparato de Golgi parece **colapsarse hacia el ER**. Quizá haga esto al inhibir el intercambiador de nucleótido guanina involucrado en la formación de vesículas COPI. De este modo, la brefeldina A ha resultado ser un útil recurso para examinar algunos aspectos de la estructura y función del aparato de Golgi.
6. El **GTP-γ-S** (un análogo no hidrolizable de GTP que a menudo se usa en investigaciones de la función del GTP en procesos bioquímicos) **bloquea el desmontaje de la cubierta** desde vesículas cubiertas, lo que da pie a acumulación de estas últimas; ello facilita su estudio.
7. Como se mencionó, una familia de proteínas parecidas a Ras, llamada **familia de proteína Rab**, se requiere en varios

pasos del transporte de proteína intracelular, y en la secreción y la endocitosis reguladas. (Las proteínas Ras participan en la emisión de señales celulares mediante receptores de tirosina cinasas.) Al igual que las proteínas Ras, las Rab son **GTPasas monoméricas pequeñas** que se fijan a las caras citosólicas de membranas (por medio de anclas de lípido **geranilgeranil**). Se **fijan** en el **estado unido a GTP** a la vesícula que está brotando, y están presentes también sobre membranas aceptoras. Las proteínas Rab interactúan con **proteínas efectoras Rab**, que tienen diversas funciones, como la participación en la atadura y en la fusión de membrana.

8. La fusión de **vesículas sinápticas** con la membrana plasmática de **neuronas** involucra una serie de eventos similares a los antes descritos. Por ejemplo, una v-SNARE se designa **sinaptobrevina**, y dos t-SNARE se designan **sintaxina** y **SNAP 25** (proteína de 25 kDa asociada con el sinaptosoma). La **toxina botulínica B** es una de las toxinas más letales conocidas, y la causa más seria de intoxicación por alimentos. Un componente de esta toxina es una **proteasa** que parece **dividir únicamente sinaptobrevina**, lo que de esta manera **inhibe la liberación de acetilcolina** en la unión neuromuscular, y posiblemente resulta letal, dependiendo de la dosis tomada.
9. Aunque el modelo anterior se refiere a **vesículas no cubiertas por clatrina**, parece probable que muchos de los eventos antes descritos se aplican, por lo menos en principio, a vesículas cubiertas por clatrina.
10. Algunas proteínas quedan sujetas además a **procesamiento adicional mediante proteólisis**, mientras están dentro de las vesículas de transporte o secretoras. Por ejemplo, los hepatocitos sintetizan la **albúmina** como **preproalbúmina** (cap. 50). Su péptido señal se elimina, lo que la convierte en proalbúmina. A su vez, la **proalbúmina**, mientras está dentro de vesículas de transporte, se convierte en **albúmina** por medio de la acción de la **furina** (**figura 46-12**). Esta enzima divide un hexapéptido desde la proalbúmina inmediatamente C terminal a un sitio aminoácido dibásico (ArgArg). La albúmina madura resultante se secreta hacia el plasma. Las hormonas como la **insulina** (cap. 41) están sujetas a divisiones proteolíticas similares mientras están dentro de vesículas secretoras.

EL MONTAJE DE MEMBRANAS ES COMPLEJO

Hay muchas membranas celulares, cada una de las cuales tiene sus propias características específicas. No se dispone de un esquema satisfactorio que describa el montaje de alguna de estas membranas. Ya se comentó el modo en que diversas proteínas inicialmente se insertan en la membrana del ER. También se ha descrito el transporte de proteínas, incluso proteínas de membrana, hacia varias partes de la célula dentro de vesículas. Quedan por abordarse algunos puntos generales en cuanto al montaje de membrana.

La asimetría tanto de proteínas como de lípidos se mantiene durante el montaje de membrana

Las vesículas que se forman a partir de membranas del ER y del aparato de Golgi, sea de manera natural o desprendidas mediante homogeneización, muestran **asimetrías transversas** tanto de lípido como de proteína. Estas **asimetrías se mantienen** en el transcurso de la fusión de vesículas de transporte con la membrana plasmática. El **interior** de las vesículas después de fusión se convierte en el **exterior de la membrana plasmática**, y el lado citoplásmico de las vesículas persiste como el lado citoplásmico de la membrana (**figura 46-13**). Puesto que la asimetría transversa de las membranas ya existe en las vesículas del ER bastante antes de que se fusionen con la membrana plasmática, un problema importante del montaje de membrana estriba en entender de qué modo las proteínas integrales se insertan en la bicapa lipídica del ER. Este problema se abordó antes en este capítulo.

Los **fosfolípidos** son la principal clase de lípidos en las membranas. Las enzimas de las cuales depende la síntesis de fosfolípidos residen en la superficie citoplásmica de las cisternas del ER. Dado que los fosfolípidos se sintetizan en este sitio, probablemente se automonten hacia capas biomoleculares estables desde el punto de vista termodinámico, lo que expande la membrana y tal vez promueve el desprendimiento de las denominadas **vesículas de lípido** desde ella. Se ha propuesto que estas vesículas viajan hacia otros sitios, y donan sus lípidos a otras membranas; no obstante, se sabe poco acerca de este tema. Como se indicó, se han demostrado proteínas citosólicas que captan fosfolípidos de una membrana y los liberan en otra (esto es, **proteínas de intercambio de fosfolípido**); probablemente participan al contribuir a la composición lipídica específica de diversas membranas.

Cabe hacer notar que difieren las **composiciones lipídicas** del ER, el aparato de Golgi y la membrana plasmática; las membranas de estos dos últimos contienen **cantidades más altas de colesterol**, **esfingomielinas y glucoesfingolípidos**, y **menos fosfoglicéridos** que el ER. Los esfingolípidos se aglomeran de manera más densa en membranas que los fosfoglicéridos. Estas diferencias afectan las estructuras y funciones de las membranas. Por ejemplo, el **grosor de la bicapa** del GA y la PM es mayor que el del ER, lo cual afecta cuáles proteínas transmembrana particulares se encuentran en estos organelos. Asimismo, se cree que las **balsas de lípido** (véase cap. 40) se forman en el GA.

Los lípidos y las proteínas pasan por recambio a diferentes índices en distintas membranas

Se ha mostrado que la vida media de los lípidos de las membranas del ER de hígado de rata en general es más breve que la de sus proteínas, de modo que los **índices de recambio de lípidos**

Señal peptidasa / Furina

Preproalbúmina ⟶ Péptido señal + Proalbúmina ⟶ Hexapéptido + Albúmina

FIGURA 46–12 División de preproalbúmina hacia proalbúmina y de esta última hacia albúmina. La furina divide la proalbúmina en el extremo C terminal de un dipéptido básico (ArgArg).

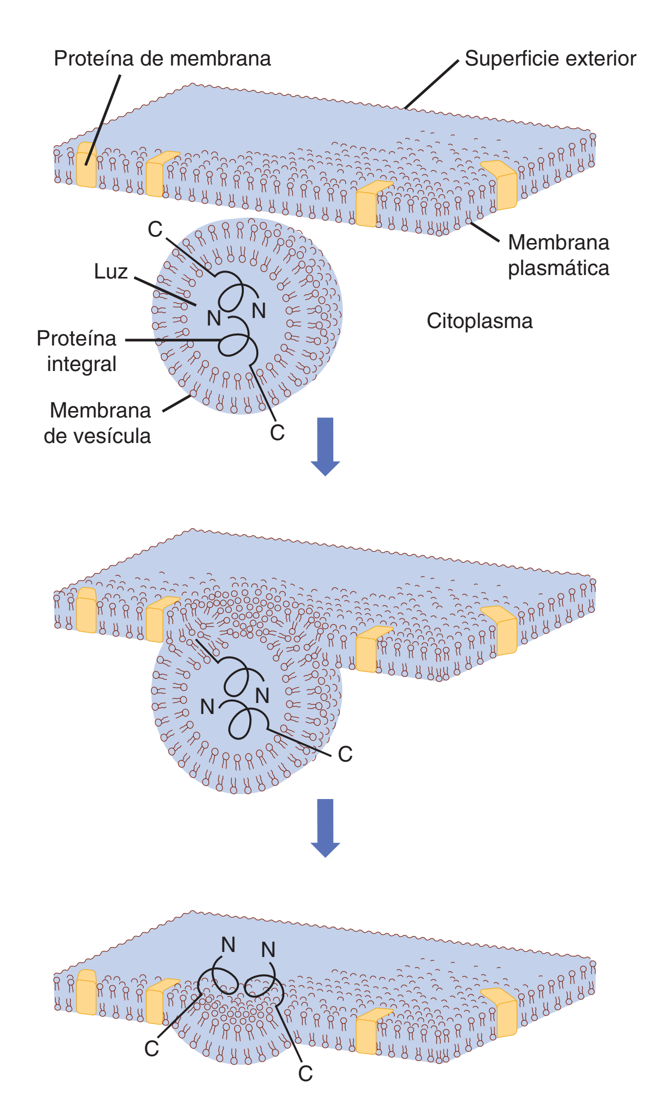


FIGURA 46–13 La fusión de una vesícula con la membrana plasmática preserva la orientación de cualesquiera proteínas integrales incrustadas en la bicapa de la vesícula. Inicialmente, el amino terminal de la proteína mira hacia la luz, o la cavidad interna, de una vesícula de ese tipo. Luego de la fusión, el amino terminal está en la superficie exterior de la membrana plasmática. El hecho de que la orientación de la proteína no se ha revertido puede percibirse al notar que el otro extremo de la molécula, el carboxilo terminal, siempre está inmerso en el citoplasma. La luz de una vesícula y el exterior de la célula son equivalentes en el aspecto topológico. (Redibujada y modificada, con autorización, de Lodish HF, Rothman JE: The assembly of cell membranes. Sci Am [Jan] 1979;240:43.)

y proteínas son independientes. En realidad, se ha encontrado que diferentes lípidos tienen distintas vidas medias. Más aún, la vida media de las proteínas de estas membranas varía bastante; algunas muestran vida media breve (de horas) y otras, prolongada (de días). De esta manera, lípidos y proteínas individuales de las membranas del ER parecen insertarse en ellas de modo relativamente independiente; ocurre esto para muchas otras membranas.

Así, la biogénesis de membranas es un proceso complejo respecto al cual queda mucho por aprender. Una indicación de la complejidad involucrada es considerar el número de **modificaciones postraduccionales** a las cuales las proteínas de membrana pueden estar sujetas antes de alcanzar su estado maduro. Éstas incluyen (y esta lista es incompleta) formación de disulfuro, proteólisis, montaje hacia multímeros, glucosilación, adición de un ancla glucofosfatidilinositol (GPI), sulfación sobre porciones tirosina o carbohidrato, fosforilación, acetilación y prenilación. Sin embargo, se ha hecho progreso importante; en el **cuadro 46-11** se resumen algunas de las principales características del montaje de membrana que han surgido hasta la fecha.

CUADRO 46–11 Algunas características importantes del montaje de membrana

• Los lípidos y proteínas se insertan de manera independiente en membranas.
• Lípidos y proteínas de membrana individuales muestran recambio de modo independiente y a índices diferentes.
• Las secuencias topogénicas (p. ej., señal [amino terminal o interna] y cese de transferencia) son importantes en la determinación de la inserción y eliminación de las proteínas en membranas.
• Proteínas de membrana dentro de vesículas de transporte brotan del retículo endoplásmico en su camino hacia el aparato de Golgi; la clasificación final de muchas proteínas de membrana ocurre en la red *trans*-Golgi.
• Secuencias de clasificación específicas guían proteínas hacia organelos particulares como lisosomas, peroxisomas y mitocondrias.

Diversos trastornos se producen por mutaciones en genes que codifican para proteínas involucradas en el transporte intracelular

Algunos trastornos que reflejan función **peroxisomal** anormal y anormalidades de la síntesis de proteína en el **ER**, y de la síntesis de **proteínas lisosomales**, se han listado antes en este capítulo (cuadros 46-3 y 46-8, respectivamente). Se han reportado muchas otras mutaciones que afectan el plegamiento de proteínas y su transporte intracelular hacia diversos orgánulos, pero no se comentan aquí (p. ej., enfermedad de Alzheimer [cap. 57] y enfermedad de Huntington). La elucidación de las causas de estos diversos **trastornos conformacionales** ha contribuido de manera significativa al entendimiento de la **patología molecular**. El término **"enfermedades de deficiencia de proteostasis"** también se ha aplicado a enfermedades debidas a plegamiento erróneo de proteínas. Proteostasis es una palabra compuesta derivada de homeostasis de proteína. La proteostasis normal se debe a un equilibrio de muchos factores, como síntesis, plegamiento, tráfico, agregación y degradación normal. Si alguno de éstos está alterado (p. ej., por mutación, envejecimiento, estrés o lesión celular), pueden ocurrir diversos trastornos, dependiendo de las proteínas particulares afectadas.

Además de la posibilidad de **terapia génica**, se espera que los intentos por restituir al menos cierto grado de plegado normal a proteínas plegadas de modo erróneo por medio de la **administración a los individuos afectados de moléculas pequeñas** que interactúen de manera específica con esas proteínas tendrán un beneficio terapéutico. Ésta es un área de investigación muy activa.

RESUMEN

- Muchas proteínas se dirigen hacia su destino mediante secuencias de señal. Una decisión de clasificación importante se toma cuando las proteínas se particionan entre polirribosomas citosólicos y unidos a membrana en virtud de la ausencia o presencia de un péptido señal N terminal.
- Se describen las vías de importación de proteínas hacia mitocondrias, núcleos, peroxisomas y el retículo endoplásmico.
- Muchas proteínas sintetizadas en polirribosomas unidos a membrana proceden hacia el aparato de Golgi y la membrana plasmática en vesículas de transporte.
- Muchas reacciones de glucosilación suceden en compartimientos del aparato de Golgi, y las proteínas se clasifican más en la red *trans*-Golgi.
- Se presenta la función de las proteínas chaperón en el plegado de proteínas y se describe la respuesta a proteína desdoblada (UPR).
- Hay una breve descripción de la degradación relacionada con el retículo endoplásmico (ERAD), y se muestra la función clave de la ubiquitina en la degradación de proteína.
- Se resume un modelo que describe el brote y la fijación de vesículas de transporte a una membrana blanco.
- Ciertas proteínas (p. ej., precursoras de albúmina y de insulina) están sujetas a proteólisis mientras están dentro de vesículas de transporte, lo que da por resultado las proteínas maduras.
- GTPasas pequeñas (p. ej., Ran, Rab) y GEF desempeñan funciones clave en muchos aspectos del tráfico intracelular.
- Se comenta brevemente el complejo proceso de montaje de membrana. La asimetría tanto de lípidos como de proteínas se mantiene durante el montaje de membrana.
- Se ha mostrado que muchos trastornos se deben a mutaciones en genes o a otros factores que afectan el plegamiento de diversas proteínas. Estas afecciones se han denominado enfermedades conformacionales, o de manera alternativa enfermedades de deficiencia proteostática. Además de la terapia génica, la creación de moléculas pequeñas que interactúan con proteínas que muestran plegamiento erróneo y ayudan a restituir al menos parte de su función es una importante área de investigación.

REFERENCIAS

Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al: *Molecular Biology of the Cell*, 5th ed. Garland Science, 2008.

Alder NN, Johnson AE: Cotranslational membrane protein biogenesis at the endoplasmic reticulum. J Biol Chem 2004;279:22787.

Bonifacino JS, Glick BS: The mechanisms of vesicle budding and fusion. Cell 2004;116:153.

Cooper GM, Hausman RE: *The Cell: A Molecular Approach*. Sinauer Associates, Inc. 2009. (An excellent textbook of cell biology, with comprehensive coverage of trafficking and sorting).

Lai E, Teodoro T, Volchuk A: Endoplasmic reticulum stress: signaling the unfolded protein response. Physiology 2007;22:193.

Lodish H, Berk A, Krieger M, et al: *Molecular Cell Biology*, 6th ed. WH Freeman & Co., 2008.

Neupert W, Herrmann JM: Translocation of proteins into mitichondria. Annu Rev Biochem 2007;76:723.

Platta HW, Erdmann R: The peroxisomal protein import machinery. FEBS Lett 2007;581;2811.

Pollard TD, Earnshaw WC: *Cell Biology*, 2nd ed. WB Saunders, 2008.

Powers ET, Morimoto RI, Dillin A, et al: Biological and chemical approaches to diseases of proteostasis deficiency. Annu Rev Biochem 2009;78:959.

Romisch K: Endoplasmic-reticulum–associated degradation. Annu Rev Cell Dev Biol 2005;21:435.

Stewart M: Molecular mechanisms of the nuclear protein import cycle. Nature Rev Mol Cell Biol 2007;8:195.

CAPÍTULO

47

Glucoproteínas

Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Tener una apreciación general de la importancia de la glucobiología y la glucómica, y en particular de las glucoproteínas, en salud y enfermedad.
- Conocer los principales azúcares que se encuentran en las glucoproteínas.
- Estar consciente de las varias clases principales de glucoproteínas (*N*-enlazadas, *O*-enlazadas, y GPI-enlazadas).
- Entender las principales características de las vías de biosíntesis y degradación de glucoproteínas *O*-enlazadas y *N*-enlazadas.
- Entender la importancia de productos terminales de glucación avanzada en la causa de daño de tejido en la diabetes mellitus.
- Ser capaz de indicar la participación de las glucoproteínas en la inflamación y en muchas afecciones, entre ellas enfermedad de células I, trastornos congénitos de la glucación, hemoglobinuria paroxística nocturna y cáncer.
- Estar familiarizado con el concepto de que muchos microorganismos, como el virus de la gripe, se fijan a la superficie celular por medio de cadenas de azúcar.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La **glucobiología** es el estudio de las funciones de los azúcares en la salud y la enfermedad. El **glucoma** es la totalidad de azúcares, sean libres o presentes en moléculas más complejas, de un organismo. La **glucómica**, un término análogo a la genómica y proteómica, es el estudio integral de los glucomas, incluso los aspectos genético, fisiológico, patológico y otros.

Una clase importante de moléculas incluidas en el glucoma son las **glucoproteínas**, éstas contienen cadenas de oligosacáridos (glucanos) unidos de modo covalente a sus esqueletos polipeptídicos. Se ha estimado que alrededor de 50% de las proteínas eucarióticas tiene azúcares fijos, de manera que la **glucosilación** (fijación enzimática de azúcares) es la modificación postraduccional más frecuente de las proteínas. También puede haber fijación no enzimática de azúcares a proteínas, lo cual se denomina **glucación**. Este proceso puede tener varias consecuencias patológicas (p. ej., en la diabetes mellitus mal controlada). Las glucoproteínas son una clase de **glucoconjugado** o **carbohidrato complejo**, términos equivalentes que se usan para denotar moléculas con una o más cadenas de carbohidrato enlazadas de modo covalente a proteína (para formar glucoproteínas o proteoglucanos) o lípido (para formar glucolípidos). (Los **proteoglucanos** se comentan en el capítulo 48, y los **glucolípidos** en el 15.) Casi todas las **proteínas plasmáticas** de los seres humanos —con excepción de la albúmina— son glucoproteínas. Muchas **proteínas de membranas celulares** (cap. 40) contienen grandes cantidades de carbohidrato. Varias de las **sustancias de grupo sanguíneo** son glucoproteínas, mientras que otras son glucoesfingolípidos. Ciertas **hormonas** (p. ej., gonadotropina coriónica) son glucoproteínas. Un problema importante en el cáncer son las **metástasis**, el fenómeno por el cual las células cancerosas abandonan su tejido de origen (p. ej., la mama), migran por el torrente sanguíneo hacia algún sitio distante en el organismo (p. ej., el cerebro), y crecen ahí de una manera no regulada, con resultados desastrosos para el paciente afectado. Muchos investigadores del cáncer creen que las alteraciones de las estructuras de las glucoproteínas y otros glucoconjugados sobre la superficie de células cancerosas tienen importancia en el fenómeno de metástasis.

LAS GLUCOPROTEÍNAS SON COMUNES Y DESEMPEÑAN MUCHAS FUNCIONES

Las glucoproteínas se encuentran en casi todos los organismos, desde bacterias hasta seres humanos. Muchos virus también contienen glucoproteínas, algunas de las cuales se han investiga-

CUADRO 47–1 Algunas funciones desempeñadas por glucoproteínas

Función	Glucoproteínas
Molécula estructural	Colágenos
Agente lubricante y protector	Mucinas
Molécula de transporte	Transferrina, ceruloplasmina
Molécula inmunitaria	Inmunoglobulinas, antígenos de histocompatibilidad
Hormona	Gonadotropina coriónica, hormona estimulante de la tiroides (TSH)
Enzima	Diversas, por ejemplo, fosfatasa alcalina
Sitio de reconocimiento de fijación celular	Varias proteínas involucradas en interacciones entre una célula y otra (p. ej., espermatozoide-oocito), entre virus y célula, entre bacteria y célula, y entre hormona y célula
Anticongelante	Ciertas proteínas plasmáticas de peces de agua fría
Interactúa con carbohidratos específicos	Lectinas, selectinas (lectinas de adherencia celular), anticuerpos
Receptor	Diversas proteínas involucradas en la acción de hormonas y medicamentos
Afecta el plegado de ciertas proteínas	Calnexina, calreticulina
Regulación del desarrollo	Notch y sus análogos, proteínas clave en el desarrollo
Hemostasia (y trombosis)	Glucoproteínas específicas sobre membranas de superficie de plaquetas

do mucho, debido en parte a que suelen desempeñar funciones clave en la fijación de virus a células (p. ej., HIV-1 y virus de la influenza A). Muchas proteínas con diversas funciones son glucoproteínas (**cuadro 47-1**); su contenido de carbohidrato varía desde 1% hasta más de 85% por peso.

Se han realizado muchos estudios en un intento por definir los papeles precisos que las cadenas de oligosacárido desempeñan en las funciones de glucoproteínas. El **cuadro 47-2** resume los resultados de esos estudios. Algunas de las funciones listadas se encuentran bien establecidas; otras aún están en investigación.

LAS CADENAS DE OLIGOSACÁRIDO CODIFICAN INFORMACIÓN BIOLÓGICA

Un enorme número de enlaces glucosídicos se puede generar entre azúcares. Por ejemplo, tres hexosas diferentes pueden estar enlazadas entre sí para formar más de 1 000 trisacáridos diferentes. Las conformaciones de los azúcares en las cadenas de oligosacárido varían según sus enlaces y proximidad a otras moléculas con las cuales los oligosacáridos pueden interactuar. Ahora se encuentra establecido que ciertas cadenas de oligosacárido codifican **información biológica** y que esto depende de los azúcares que las constituyen, sus secuencias y enlaces. Por ejemplo, los residuos manosa 6-fosfato dirigen enzimas lisosómicas recién sintetizadas a ese organelo (véase más adelante). La información biológica que contienen los azúcares se expresa mediante interacciones entre azúcares específicos, sean libres o en glucoconjugados, y proteínas (como lectinas; véase más adelante) u otras moléculas. Estas interacciones conducen a cambios de la actividad celular. Así, descifrar el llamado **"código de azúcar de la vida"** (uno de los principales objetivos de la glucómica) conlleva elucidar todas las interacciones en las cuales participan los azúcares y las moléculas que contienen azúcar, y los resultados de estas interacciones sobre la conducta celular. Al considerar la diversidad de los glucanos que se encuentran en las células, es evidente que se trata de una tarea difícil.

CUADRO 47–2 Algunas funciones de las cadenas de oligosacáridos de glucoproteínas

- Modulan propiedades físico-químicas, p. ej., solubilidad, viscosidad, carga, conformación, desnaturalización, y sitios de unión para diversas moléculas, bacterias, virus y algunos parásitos
- Protegen contra proteólisis, desde dentro y fuera de la célula
- Afectan el procesamiento proteolítico de proteínas precursoras hacia productos de menor tamaño
- Participan en la actividad biológica, por ejemplo, de gonadotropina coriónica humana (hCG)
- Afectan la inserción hacia membranas, la migración intracelular, la clasificación y la secreción
- Afectan el desarrollo y la diferenciación embrionarios
- Pueden afectar sitios de metástasis seleccionados por células cancerosas

Fuente: Adaptado con autorización de Schachter H: Biosynthetic controls that determine the branching and heterogeneity of protein-bound oligosaccharides. Biochem Cell Biol 1986;64:163.

SE DISPONE DE TÉCNICAS PARA DETECCIÓN, PURIFICACIÓN, ANÁLISIS ESTRUCTURAL Y SÍNTESIS DE GLUCOPROTEÍNAS

El **cuadro 47-3** lista diversos métodos empleados en la detección, purificación y análisis estructural de glucoproteínas.

Los métodos convencionales usados para purificar proteínas y enzimas también son aplicables a la purificación de glucoproteínas. Una vez que una glucoproteína se ha purificado, el uso de **espectrometría de masa** y **espectroscopia con resonancia magnética nuclear** (NMR) **de alta resolución a menudo permiten** identificar las estructuras de sus cadenas de glucano. El análisis de glucoproteínas puede complicarse por el hecho de que suelen existir como **glucoformas**; éstas son proteínas con secuencias de aminoácido idénticas pero composiciones de oligosacárido un poco diferentes. Aun cuando en este capítulo no se recalcan los detalles de enlace, es crucial apreciar que las naturalezas exactas de los enlaces entre los azúcares de glucoproteínas tienen importancia fundamental en la determinación de las estructuras y funciones de estas moléculas. También se están haciendo avances impresionantes en la **química sintética**, lo que permite la síntesis de glucanos complejos que pueden probarse respecto a actividad biológica y farmacológica. Además, existen métodos en los que se emplean organismos simples, como levaduras, para secretar glucoproteínas humanas de valor terapéutico (p. ej., eritropoyetina) hacia su medio circundante.

CUADRO 47–3 Algunos métodos importantes empleados para estudiar glucoproteínas

Método	Uso
Reactivo ácido peryódico de Schiff	Detecta glucoproteínas como bandas de color rosado luego de separación electroforética.
Incubación de células cultivadas con un azúcar radiactivo	Lleva a la detección de glucoproteínas como bandas radiactivas después de separación electroforética.
Tratamiento con endoglucosidasa o exoglucosidasa o fosfolipasas	Cambios resultantes de la migración electroforética ayudan a distinguir entre proteínas con enlaces *N*-glucano, *O*-glucano, o GPI, y entre *N*-glucanos con alto contenido de manosa y complejos.
Cromatografía en columna de sefarose-lectina	Para purificar glucoproteínas o glucopéptidos que se unen a la lectina particular usada.
Análisis composicional después de hidrólisis ácida	Identifica azúcares que la glucoproteína contiene y su estoiquiometría.
Espectrometría de masas	Proporciona información sobre masa molecular, composición, secuencia y en ocasiones ramificación de una cadena de glucano.
Espectroscopia con NMR	Identificar azúcares específicos, su secuencia, enlaces y la naturaleza anomérica de enlaces glucosídicos.
Análisis de metilación (enlace)	Determinar enlaces entre azúcares.
Secuenciación de aminoácido o cDNA	Determinación de la secuencia de aminoácidos.

EN LAS GLUCOPROTEÍNAS HUMANAS PREDOMINAN OCHO AZÚCARES

Hay alrededor de 200 monosacáridos en la naturaleza; sin embargo, sólo ocho se encuentran a menudo en las cadenas de oligosacárido de glucoproteínas (**cuadro 47-4**). Casi todos estos azúcares se describieron en el capítulo 14. El ácido *N*-acetilneuramínico (NeuAc) por lo general se encuentra en las terminales de cadenas de oligosacárido, fijo a residuos galactosa (Gal) o *N*-acetilgalactosamina (GalNAc) subterminales. Los otros azúcares listados por lo regular se encuentran en posiciones más internas. El **sulfato** suele encontrarse en glucoproteínas, por lo general fijo a Gal, GalNAc, o GlcNAc.

LOS AZÚCARES NUCLEÓTIDO ACTÚAN COMO DONADORES DE AZÚCAR EN MUCHAS REACCIONES BIOSINTÉTICAS

Tiene importancia entender que en casi todas las reacciones biosintéticas, no es el azúcar libre o el azúcar fosforilado el que participa en esas reacciones, sino más bien el **azúcar nucleótido** correspondiente. El primer azúcar nucleótido cuya existencia se informó fue la uridina difosfato glucosa (UDP-Glc), cuya estructura se muestra en la figura 19-2. En el cuadro 47-4 se listan los azúcares nucleótido comunes involucrados en la biosíntesis de glucoproteínas; no están claras las razones por las cuales al-

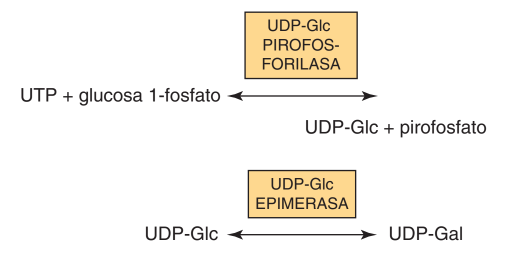
CUADRO 47–4 Los principales azúcares que se encuentran en glucoproteínas de ser humano[1]

Azúcar	Tipo	Abreviatura	Azúcar nucleótido	Comentarios
Galactosa	Hexosa	Gal	UDP-Gal	Suele encontrarse en posición subterminal a NeuAc en glucoproteínas *N*-enlazadas. También se encuentra en el trisacárido central de proteoglucanos.
Glucosa	Hexosa	Glc	UDP-Glc	Presente durante la biosíntesis de glucoproteínas *N*-enlazadas, pero por lo general no presente en glucoproteínas maduras. Presente en algunos factores de la coagulación.
Manosa	Hexosa	Man	GDP-Man	Azúcar común en glucoproteínas *N*-enlazadas.
Ácido *N*-acetilneuramínico	Ácido siálico (9 átomos de C)	NeuAc	CMP-NeuAc	A menudo el azúcar terminal en glucoproteínas tanto *N*- como *O*-enlazadas. También se encuentran otros tipos de ácido siálico, pero NeuAc es la principal especie que se halla en seres humanos. Los grupos acetilo también pueden encontrarse como especies *O*-acetilo, así como *N*-acetilo.
Fucosa	Desoxihexosa	Fuc	GDP-Fuc	Puede ser externa en glucoproteínas tanto *N*- como *O*-enlazadas, o interna, enlazada al residuo GlcNAc fijo a Asn en especies *N*-enlazadas. También puede encontrarse internamente fija al OH de Ser (p. ej., en t-PA y ciertos factores de la coagulación).
N-acetilgalactosamina	Aminohexosa	GalNAc	UDP-GalNAc	Presente en glucoproteínas tanto *N*- como *O*-enlazadas.
N-acetilglucosamina	Aminohexosa	GlcNAc	UDP-GlcNAc	El azúcar fijo a la cadena polipeptídica mediante Asn en glucoproteínas *N*-enlazadas; también se encuentra en otros sitios en los oligosacáridos de estas proteínas. Muchas proteínas nucleares tienen GlcNAc fijo al OH de Ser o Tre como un azúcar único.
Xilosa	Pentosa	Xil	UDP-Xil	Xil está fija al OH de Ser en muchos proteoglucanos. Xil a su vez está fija a dos residuos Gal, lo que forma un enlace trisacárido. Xil también se encuentra en t-PA y ciertos factores de la coagulación.

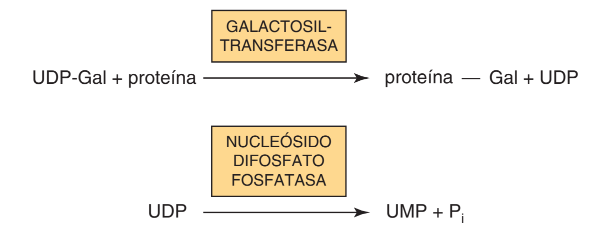
[1]Las estructuras de las glucoproteínas se ilustran en el capítulo 14.

gunos contienen UDP y otros difosfato de guanosina (GDP) o monofosfato de citidina (CMP). En muchas de las reacciones de glucosilación involucradas en la biosíntesis de glucoproteínas se usan estos compuestos (véase más adelante). La **naturaleza anhidro** del enlace entre el grupo fosfato y los azúcares es del tipo de alta energía, de alto potencial de transferencia de grupo (cap. 11). De este modo, los azúcares de estos compuestos están **"activados"** y pueden transferirse hacia aceptores idóneos con tal de que haya transferasas apropiadas disponibles.

Casi todos los azúcares nucleótido se forman en el citosol, generalmente a partir de reacciones que incluyen el nucleósido trifosfato correspondiente. Los ácidos CMP-siálicos se forman en el núcleo. La formación de uridina difosfato galactosa (UDP-Gal) requiere las dos reacciones que siguen en tejidos de mamíferos:



Dado que muchas reacciones de glucosilación ocurren dentro de la luz del aparato de Golgi, se necesitan **sistemas acarreadores** (permeasas, transportadores) para transportar azúcares nucleótido a través de la membrana de Golgi. Se han descrito sistemas que transportan UDP-Gal, GDP-Man y CMP-NeuAc hacia las cisternas del aparato de Golgi. Son sistemas **antiporte**; es decir, el flujo de entrada de una molécula de azúcar nucleótido está equilibrado por el flujo de salida de una molécula del nucleótido correspondiente (p. ej., UMP, GMP o CMP) formado a partir de los azúcares nucleótido. Este mecanismo asegura una concentración adecuada de cada azúcar nucleótido dentro del aparato de Golgi. El UMP se forma a partir del UDP-Gal en el proceso anterior como sigue:



LAS EXOGLUCOSIDASAS Y ENDOGLUCOSIDASAS FACILITAN EL ESTUDIO DE LAS GLUCOPROTEÍNAS

Varias **glucosidasas** de especificidad definida han resultado útiles en el examen de los aspectos estructural y funcional de glucoproteínas (**cuadro 47-5**). Estas enzimas actúan en posición externa (exoglucosidasas) o interna (endoglucosidasas) de cadenas de oligosacárido. Los ejemplos de exoglucosidasas son **neuraminidasas** y **galactosidasas**; su uso secuencial elimina residuos de NeuAc terminales y Gal subterminales de casi todas las glucoproteínas. Las **endoglucosidasas F** y **H** son ejemplos de esta última clase; estas enzimas dividen las cadenas de oligosacárido en residuos GlcNAc específicos cerca del esqueleto polipeptídico (esto es, en sitios internos; figura 47-5) y, de esta manera, son útiles en la liberación de cadenas de oligosacárido grandes para análisis estructurales. Una glucoproteína puede tratarse con una o más de las glucosidasas anteriores para analizar los efectos sobre su conducta biológica y eliminación de azúcares específicos.

CUADRO 47–5 Algunas glucosidasas empleadas para estudiar la estructura y función de glucoproteínas[1]

Enzimas	Tipo
Neuraminidasas	Exoglucosidasa
Galactosidasas	Exoglucosidasa o endoglucosidasa
Endoglucosidasa F	Endoglucosidasa
Endoglucosidasa H	Endoglucosidasa

[1]Las enzimas están disponibles a partir de diversas fuentes, y suelen ser específicas para ciertos tipos de enlaces glucosídicos y también para sus naturalezas anoméricas. La figura 47-5 muestra los sitios de acción de las endoglucosidasas F y H. F actúa sobre oligosacáridos tanto con alto contenido de manosa como complejos, mientras que H actúa sobre los primeros.

EL RECEPTOR DE ASIALOGLUCOPROTEÍNA DE MAMÍFERO PARTICIPA EN LA DEPURACIÓN DE CIERTAS GLUCOPROTEÍNAS DEL PLASMA POR LOS HEPATOCITOS

Experimentos efectuados por Ashwell y sus colegas a principios del decenio de 1970-1979 fueron importantes en el enfoque de la atención sobre la importancia funcional de las cadenas de oligosacárido de glucoproteínas. Trataron ceruloplasmina (una proteína plasmática; cap. 50) de conejo con neuraminidasa *in vitro*. Este procedimiento expuso residuos Gal subterminales que normalmente estuvieron enmascarados por residuos NeuAc terminales. Se halló que la ceruloplasmina radiactiva tratada con neuraminidasa desaparece con rapidez de la circulación, en contraste con la depuración lenta de la proteína no tratada. Es muy importante que cuando los residuos Gal expuestos a tratamiento con neuraminidasa se eliminaron por medio de tratamiento con una galactosidasa, el índice de depuración de la proteína volvió a lo normal. Estudios adicionales demostraron que las células hepáticas contienen un **receptor de asialoglucoproteína de mamífero** que reconoce la porción Gal de muchas proteínas plasmáticas desialiladas y da pie a su endocitosis. Esta investigación indicó que un azúcar individual, como Gal, podría tener importancia en el gobierno de al menos una de las propiedades biológicas (es decir, el tiempo de residencia en la circulación) de ciertas glucoproteínas. Esto fortaleció mucho el concepto de que las cadenas de oligosacárido podrían contener información biológica.

LAS LECTINAS PUEDEN EMPLEARSE PARA PURIFICAR GLUCOPROTEÍNAS Y SONDEAR SUS FUNCIONES

Las lectinas son **proteínas de unión a carbohidrato** que aglutinan células o precipitan glucoconjugados; varias lectinas son glucoproteínas ellas mismas. Las inmunoglobulinas que reaccionan con azúcares no se consideran lectinas. Las lectinas contienen por lo menos dos sitios de unión a azúcar; las proteínas que tienen un sitio de unión a azúcar único no aglutinarán células ni precipitarán glucoconjugados. La especificidad de una lectina por lo general se define por los azúcares que son mejores para inhibir su capacidad para causar aglutinación o precipitación. Las enzimas, toxinas y proteínas de transporte pueden clasificarse como lectinas si se unen a carbohidrato. Las lectinas se descubrieron en vegetales y microbios, pero ahora se conocen muchas lectinas de origen animal. El receptor de asialoglucoproteína de mamífero antes descrito es un ejemplo importante de una lectina de origen animal. El **cuadro 47-6** lista algunas lectinas importantes. Gran parte de la investigación actual se centra en las funciones de diversas lectinas de origen animal en los mecanismos de acción de glucoproteínas, algunas de las cuales se comentan más adelante (p. ej., respecto a las selectinas).

Se han purificado muchas lectinas y están disponibles comercialmente; el **cuadro 47-7** lista tres lectinas de origen vegetal de las cuales se ha hecho amplio uso experimental. Entre muchas aplicaciones, las lectinas se han utilizado para purificar glucoproteínas específicas, como recursos para sondear los perfiles de glucoproteína de superficie celulares, y como reactivos para generar células mutantes con deficiencia de ciertas enzimas involucradas en la biosíntesis de cadenas de oligosacárido.

CUADRO 47–6 Algunas lectinas importantes

Lectinas	Ejemplos o comentarios
Lectinas de legumbres	Concanavalina A, lectina de chícharo (guisante)
Aglutinina de germen de trigo	Ampliamente usada en estudios de superficies de células normales y células cancerosas
Ricino	Glucoproteína citotóxica derivada de las semillas de la planta ricino
Toxinas bacterianas	Enterotoxina lábil al calor de *E. coli* y toxina del cólera
Hemaglutinina del virus de la influenza	Se encarga de la fijación a la célula huésped y la fusión de membrana
Lectinas tipo C	Se caracterizan por un dominio de reconocimiento de carbohidrato (CRD) dependiente de Ca^{2+}; incluyen el receptor de asialoglucoproteína de mamífero, las selectinas, y la proteína de unión a manosa
Lectinas tipo S	Lectinas de origen animal de unión a β-galactosidasa con funciones en interacciones entre una célula y otra, y entre célula y matriz
Lectinas tipo P	Receptor de manosa 6-P
Lectinas tipo I	Miembros de la superfamilia de inmunoglobulina, por ejemplo, la sialoadhesina media la adherencia de macrófagos a diversas células

CUADRO 47–7 Tres lectinas vegetales y los azúcares con los cuales interactúan[1]

Lectina	Abreviatura	Azúcares
Concanavalina A	ConA	Man y Glc
Lectina de soya (soja)		Gal y GalNAc
Aglutinina de germen de trigo	WGA	Glc y NeuAc

[1] Las lectinas casi siempre muestran especificidad para la naturaleza anomérica del enlace glucosídico (α o β); esto no se indica en el cuadro.

HAY TRES CLASES PRINCIPALES DE GLUCOPROTEÍNAS

Con base en la naturaleza del enlace entre sus cadenas polipeptídicas y sus cadenas de oligosacárido, las glucoproteínas se dividen en tres clases principales (**figura 47-1**): 1) las que contienen un **enlace *O*-glucosídico** (es decir, *O*-enlazadas), que comprenden la cadena lateral hidroxilo de serina o treonina y un azúcar como *N*-acetilgalactosamina (GalNAc-Ser[Tre]); 2) las que contienen un **enlace *N*-glucosídico** (esto es, *N*-enlazadas), que involucran el nitrógeno amino de la asparagina y *N*-acetilglucosamina (GlcNAc-Asn), y 3) aquellas enlazadas al aminoácido carboxilo terminal de una proteína mediante porción fosforiletanolamina unida a un oligosacárido (glucano), que a su vez se enlaza por medio de glucosamina a fosfatidilinositol (PI). Esta última clase se denomina glucoproteínas **ancladas a glucofosfatidilinositol** (**GPI-ancladas** o **GPI-enlazadas**). Los miembros de esta clase, entre otras funciones, están involucrados en dirigir ciertas glucoproteínas hacia el área apical o basolateral de la membrana plasmática (PM) de algunas células epiteliales polarizadas (cap. 40; y más adelante). También hay otras clases menores de glucoproteínas.

El número de cadenas de oligosacárido fijas a una proteína puede variar desde una hasta 30 o más; las cadenas de azúcar varían desde uno o dos residuos de longitud hasta estructuras de tamaño considerablemente mayor. Muchas proteínas contienen más de un tipo de cadena de azúcar; por ejemplo, la **glucoforina**, una importante glucoproteína de la membrana de los eritrocitos (cap. 52), contiene oligosacáridos tanto *O*-enlazados como *N*-enlazados.

LAS GLUCOPROTEÍNAS CONTIENEN VARIOS TIPOS DE ENLACES *O*-GLUCOSÍDICOS

En las glucoproteínas de ser humano se encuentran al menos cuatro subclases de enlaces *O*-glucosídicos: 1) el enlace **GalNAc Ser(Tre)** (figura 47-1) es el enlace predominante. La **figura 47-2** muestra dos cadenas de oligosacárido típicas que se encuentran en miembros de esta subclase. Regularmente un residuo Gal o uno NeuAc está fijo al GalNAc, pero se encuentran muchas variaciones de las composiciones de azúcar y longitudes de esas cadenas de oligosacárido. Este tipo de enlaces se encuentra en **mucinas** (véase más adelante). 2) Los **proteoglucanos** contienen un trisacárido **Gal-Gal-Xil-Ser** (el llamado trisacárido de enlace). 3) Los **colágenos** contienen un enlace **Gal-hidroxilisi-**

FIGURA 47–1 **Representaciones de (A) un *O*-enlace (*N*-acetilgalactosamina a serina), (B) un *N*-enlace (*N*-acetilglucosamina a asparagina), y (C) un enlace de glucosilfosfatidilinositol (GPI).** La estructura del GPI mostrada es la que enlaza a la acetilcolinesterasa a la membrana plasmática del eritrocito de ser humano. El aminoácido carboxilo terminal es glicina unida en enlace amida mediante su grupo COOH al grupo NH_2 de la fosforiletanolamina que, a su vez, está unida a un residuo manosa. El glucano central contiene tres residuos manosa y un residuo glucosamina. La glucosamina está enlazada a inositol, que está fijo a ácido fosfatídico. Se indica el sitio de acción de la PI-fosfolipasa C (PI-PLC). La estructura del glucano central se muestra en el texto. Este GPI particular contiene un ácido graso extra fijo a inositol, y una porción fosforiletanolamina extra fija a la mitad de los tres residuos manosa. Las variaciones que se encuentran entre diferentes estructuras del GPI incluyen la identidad del aminoácido carboxilo terminal, las moléculas fijas a los residuos manosa, y la naturaleza precisa de la porción lípido.

na (**Hil**). (Las subclases [2] y [3] se comentan más en el cap. 48.) 4) Muchas **proteínas nucleares** (p. ej., ciertos factores de transcripción) y **proteínas citosólicas** contienen cadenas laterales que constan de un GlcNAc único fijo a un residuo serina o treonina (**GlcNAc-Ser**[**Tre**]).

FIGURA 47–2 **Estructuras de dos oligosacáridos *O*-enlazados hallados en (A) mucinas submaxilares y (B) fetuína y en la sialoglucoproteína de la membrana de eritrocitos de ser humano.** (Modificada y reproducida, con autorización, de Lennarz WJ: *The Biochemistry of Glycoproteins and Proteoglycans.* Plenum Press, 1980. Reproducida con la amable autorización de Springer Science and Business Media.)

Las mucinas tienen un alto contenido de oligosacáridos *O*-enlazados, y muestran secuencias de aminoácidos que se repiten

Las mucinas son glucoproteínas con dos características principales: 1) contenido alto de **oligosacáridos *O*-enlazados** (el contenido de carbohidrato de mucinas por lo general es de más de 50%), y 2) presencia de **números variables de repeticiones en tándem** (**VNTR**) de secuencias de péptidos en el centro de sus esqueletos polipeptídicos, a las cuales las cadenas de *O*-glucano están fijas en agrupaciones (**figura 47-3**); estas secuencias tienen alto contenido de serina, treonina y prolina. Si bien predominan los *O*-glucanos, las mucinas a menudo contienen varias cadenas de *N*-glucano. Hay mucinas tanto **secretora** como **unida a membrana**. Las primeras se encuentran en el moco presente en las secreciones del tubo digestivo, las vías respiratorias y las vías reproductoras. El **moco** consta de aproximadamente 94% de agua y 5% de mucinas; el resto es una mezcla de diversas moléculas celulares, electrólitos, y remanentes de células. Las mucinas secretoras por lo general tienen una estructura oligomérica y, así, suelen tener una masa molecular muy alta. Los oligómeros están compuestos de monómeros unidos por enlaces disulfuro. El moco muestra **viscosidad** alta y a menudo forma un **gel**. Estas cualidades son funciones de su contenido de mucina. El con-

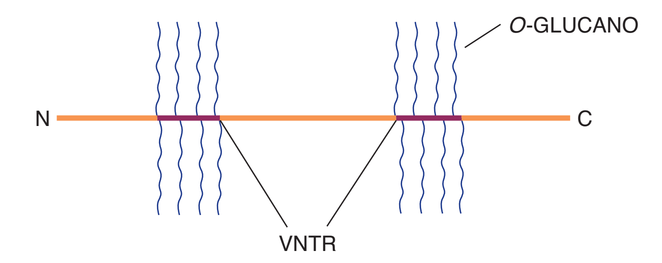


FIGURA 47–3 Esquema muy simplificado de una mucina. Los *O*-glucanos (azul) se muestran fijos a dos de muchas regiones VNTR (rojo). También puede haber *N*-glucanos presentes. Las mucinas por lo general contienen cisteínas (que no se muestran) cerca de sus N y C terminales, que están involucradas en la polimerización por medio de puentes disulfuro. Otros dominios (D) cerca de sus N terminales también están involucrados en la polimerización. Las mucinas unidas a membrana contienen dominios transmembrana y citosólicos, además de dominios extracelulares de mayor tamaño que contienen *O*-glucanos.

tenido alto de *O*-glucanos confiere una estructura extendida sobre mucinas. Esto se explica en parte por interacciones estéricas entre sus porciones GalNAc y aminoácidos adyacentes, lo que origina un efecto de endurecimiento de cadena, de modo que las conformaciones de mucinas suelen convertirse en las de varillas rígidas. Interacciones no covalentes intermoleculares entre diversos azúcares en cadenas de glucano vecinas contribuyen a la formación de gel. El contenido alto de residuos **NeuAc** y **sulfato** que se encuentra en muchas mucinas les confiere una carga negativa. En cuanto a la función, las mucinas ayudan a **lubricar** y forman una **barrera física protectora** sobre superficies epiteliales. Las mucinas unidas a membrana participan en diversas **interacciones entre una célula y otra** (p. ej., que involucran selectinas; véase más adelante). La densidad de cadenas de oligosacárido dificulta que las **proteasas** se acerquen a sus esqueletos polipeptídicos, de manera que las mucinas a menudo son resistentes a su acción. Las mucinas también tienden a "enmascarar" ciertos antígenos de superficie. Muchas células cancerosas forman cantidades excesivas de mucinas; quizá estas últimas pueden enmascarar ciertos antígenos de superficie sobre esas células y, de este modo, las protegen contra la vigilancia inmunitaria. Las mucinas también portan epítopos péptido y carbohidrato específicos para cáncer (un epítopo es un sitio en un antígeno reconocido por un anticuerpo, también denominado un determinante antigénico). Algunos de estos epítopos se han empleado para estimular una respuesta inmunitaria contra células cancerosas.

Se han clonado y secuenciado los **genes** que codifican para los esqueletos polipeptídicos de diversas mucinas derivadas de varios tejidos (p. ej., páncreas, intestino delgado, tráquea y bronquios, estómago, y glándulas salivales). Estos estudios han revelado nueva información acerca de los esqueletos polipeptídicos de las mucinas (tamaño de repeticiones en tándem, sitios potenciales de *N*-glucosilación, etc.) y finalmente deben revelar aspectos de su control genético. El **cuadro 47-8** resume algunas propiedades importantes de las mucinas.

CUADRO 47–8 Algunas propiedades de las mucinas

• Se encuentran en secreciones del tubo digestivo, las vías respiratorias y las vías de la reproducción, y en membranas de diversas células.
• Muestran alto contenido de cadenas de *O*-glucano, por lo regular contienen NeuAc.
• Contienen secuencias de aminoácidos repetitivas ricas en serina, treonina y prolina.
• La estructura extendida contribuye a su viscoelasticidad alta.
• Forman una barrera física protectora sobre superficies epiteliales, participan en interacciones entre una célula y otra, y pueden contener o enmascarar ciertos antígenos de superficie.

En la biosíntesis de glucoproteínas *O*-enlazadas se usan azúcares nucleótido

Las cadenas polipeptídicas de glucoproteínas *O*-enlazadas y otras están codificadas por especies de mRNA; puesto que muchas glucoproteínas están unidas a membrana o son secretadas, por lo general se traducen en polirribosomas unidos a membrana (cap. 37). Hay cientos de cadenas de oligosacárido diferentes del tipo *O*-glucosídico. Estas glucoproteínas se acumulan mediante la **donación por pasos de azúcares desde azúcares nucleótido**, como UDP-GalNAc, UDP-Gal y CMP-NeuAc. Las enzimas que catalizan este tipo de reacción son **glucoproteína glucosil transferasas** unidas a membrana. Regularmente, la síntesis de un tipo específico de enlace requiere la actividad de una transferasa específica en forma correspondiente. No se han identificado los factores que determinan cuáles residuos serina y treonina específicos se glucosilan, pero probablemente se encuentran en la estructura peptídica que rodea al sitio de glucosilación. Las enzimas que semejan cadenas *O*-enlazadas están localizadas en el aparato de Golgi, dispuestas de manera secuencial en una cadena de montaje con reacciones terminales que ocurren en los compartimientos *trans*-Golgi.

El **cuadro 47-9** resume las principales características de la biosíntesis de glucoproteínas *O*-enlazadas.

LAS GLUCOPROTEÍNAS *N*-ENLAZADAS CONTIENEN UN ENLACE Asn-GLcNAc

Las glucoproteínas *N*-enlazadas se distinguen por la presencia del enlace Asn-GlcNAc (figura 47-1). Es la principal clase de glucoproteínas y se ha estudiado mucho, dado que las glucopro-

CUADRO 47–9 Resumen de las principales características de la *O*-glucosilación

• Comprende una batería de glucoproteína glucosiltransferasas unidas a membrana, que actúan por pasos; cada transferasa por lo general es específica para un tipo de enlace particular.
• Las enzimas involucradas están ubicadas en diversos subompartimientos del aparato de Golgi.
• Cada reacción de glucosilación incluye el azúcar nucleótido apropiado.
• El dolicol-P-P-oligosacárido no está involucrado; tampoco lo están las glucosidasas, y la tunicamicina no inhibe las reacciones.
• La *O*-glucosilación ocurre de modo postraduccional en ciertos residuos Ser y Tre.

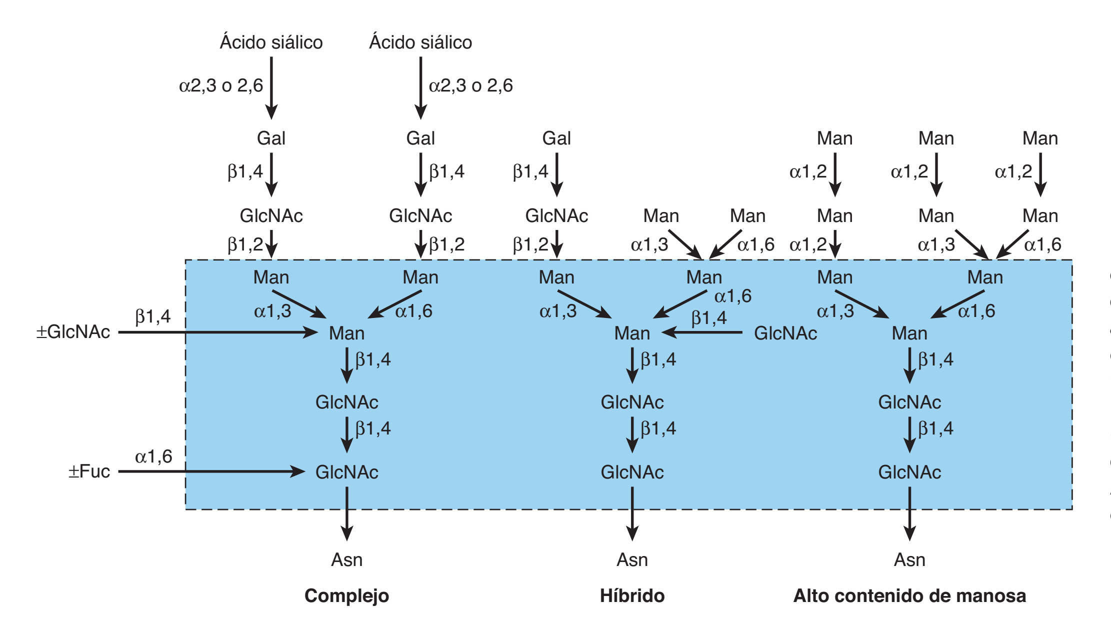


FIGURA 47–4 Estructuras de los principales tipos de oligosacáridos enlazados a asparagina. El área incluida en un cuadro encierra el centro pentasacárido común a todas las glucoproteínas *N*-enlazadas. (Reproducida, con autorización, de Kornfeld R, Kornfeld S: Assembly of asparagine-linked oligosaccharides. Annu Rev Biochem 1985;54:631. Copyright © 1985 por Annual Reviews. Reimpresa con autorización.)

teínas más fácilmente accesibles (p. ej., proteínas plasmáticas) pertenecen principalmente a este grupo. Incluye glucoproteínas tanto **unidas a membrana** como **circulantes**. La principal diferencia entre esta clase y la previa, además de la naturaleza del aminoácido al cual se fija la cadena de oligosacárido (Asn en contraposición con Ser o Tre), tiene que ver con su biosíntesis.

Las tres principales clases de oligosacáridos *N*-enlazados son complejos, híbridos y con alto contenido de manosa

Hay tres clases importantes de oligosacáridos *N*-enlazados: **complejos**, **híbridos** y con **alto contenido de manosa** (**figura 47-4**). Cada tipo comparte un pentasacárido, $Man_3GlcNAc_2$, que se muestra dentro del área encerrada en un cuadro en la figura 47-4, y se representa también en la **figura 47-5**, pero difieren en sus ramas externas. La presencia del **pentasacárido común** se explica por el hecho de que las tres clases comparten un mecanismo de biosíntesis inicial. Las glucoproteínas del tipo complejo por lo general contienen residuos NeuAc terminales y residuos Gal y GlcNAc subyacentes; estos últimos suelen constituir el disacárido *N*-acetil lactosamina. Las unidades de ***N*-acetil lactosamina** que se repiten —$[Gal\beta1–3/4GlcNAc\beta1–3]_n$ (poli-*N*-acetil lactosaminoglucanos)— a menudo se encuentran en cadenas de glucano *N*-enlazadas. Las sustancias de grupo sanguíneo I/i pertenecen a esta clase. Casi todos los oligosacáridos de tipo complejo contienen 2, 3 o 4 ramas externas (figura 47-4), pero también se han descrito estructuras que contienen cinco ramas. Las ramas de oligosacárido suelen llamarse **antenas**, de modo que pueden encontrarse estructuras biantenarias, triantenarias, tetraantenarias y pentaantenarias. Hay un número desconcertante de cadenas del tipo complejo, y la que se indica en la figura 47-4 sólo es una de muchas. Otras cadenas complejas pueden terminar en Gal o Fuc. Los oligosacáridos con alto contenido de manosa típicamente tienen dos a seis residuos Man adicionales enlazados al centro pentasacárido. Las moléculas híbridas contienen características de las otras dos clases.

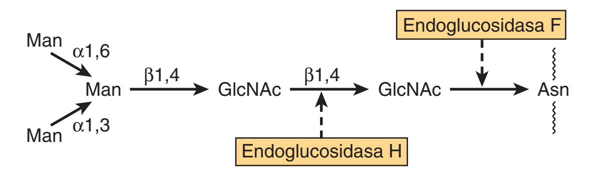


FIGURA 47–5 Diagrama esquemático del centro pentasacárido común a todas las glucoproteínas *N*-enlazadas, y al cual pueden fijarse diversas cadenas externas de oligosacáridos. También se indican los sitios de acción de endoglucosidasas F y H.

La biosíntesis de glucoproteínas *N*-enlazadas involucra dolicol-P-P-oligosacárido

Leloir y sus colegas describieron un **dolicol-pirofosfato-oligosacárido** (**Dol-P-P-oligosacárido**), cuya investigación subsiguiente mostró que tiene una función clave en la biosíntesis de glucoproteínas *N*-enlazadas. La cadena de oligosacárido de este compuesto por lo general tiene la estructura $R\text{-}GlcNAc_2Man_9Glc_3$ (R = DolP-P). Los azúcares de este compuesto se ensamblan primero en el esqueleto Dol-P-P, y la cadena de oligosacárido a continuación se transfiere en bloque hacia residuos Asn idóneos de apoglucoproteínas aceptoras durante su síntesis en polirribosomas unidos a membrana. Todos los *N*-glucanos tienen una estructura central de pentasacárido común (figura 47-5).

Para formar cadenas con **alto contenido de manosa**, sólo se eliminan los residuos Glc más algunos de los residuos Man periféricos. Para formar una cadena de oligosacárido del **tipo complejo**, los residuos Glc y cuatro de los residuos Man se eliminan por medio de glucosidasas en el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi. Los azúcares característicos de las cadenas complejas (GlcNAc, Gal, NeuAc) se añaden mediante la acción

FIGURA 47–6 **La estructura del dolicol.** El fosfato en el dolicol fosfato está fijo al grupo alcohol primario en el extremo izquierdo de la molécula. El grupo dentro de los corchetes es una unidad de isopreno (n = 17 a 20 unidades isoprenoides).

$$HO-CH_2-CH_2-\underset{CH_3}{\overset{H}{C}}-CH_2-\left[CH_2-CH=\overset{CH_3}{C}-CH_2\right]_n-CH_2-CH=\overset{CH_3}{C}-CH_3$$

de glucosiltransferasas individuales localizadas en el aparato de Golgi. El fenómeno por el cual las cadenas de glucano de glucoproteínas *N*-enlazadas primero se degradan parcialmente y después en algunos casos se reconstruyen se denomina **procesamiento de oligosacárido**. Las **cadenas híbridas** se forman por medio de procesamiento parcial, que forma cadenas complejas en un extremo, y estructuras Man en el otro.

De esta manera, los pasos iniciales involucrados en la biosíntesis de las glucoproteínas *N*-enlazadas difieren de modo notorio de los comprendidos en la biosíntesis de las glucoproteínas *O*-enlazadas. La primera incluye Dol-P-P-oligosacárido, no así la segunda, como se describió.

El proceso de *N*-glucosilación puede fragmentarse en dos etapas: 1) montaje de Dol-P-P-oligosacárido y transferencia del oligosacárido, y 2) procesamiento de la cadena de oligosacárido.

Montaje y transferencia de dolicol-P-P-oligosacárido

Los compuestos **poliisoprenol** existen tanto en bacterias como en las células eucarióticas. Participan en la síntesis de polisacáridos bacterianos y en la biosíntesis de glucoproteínas *N*-enlazadas y anclas GPI. El poliisoprenol empleado en tejidos eucarióticos es el **dolicol**, que, junto al caucho, es el hidrocarburo natural más largo constituido por una unidad repetitiva única. El dolicol está compuesto de 17 a 20 unidades isoprenoides repetitivas (**figura 47-6**).

Antes de que participe en la biosíntesis de Dol-P-P-oligosacárido, el dolicol primero se debe fosforilar para formar dolicol fosfato (Dol-P) en una reacción catalizada por la **dolicol cinasa** y que usa ATP como el donador de fosfato.

El **dolicol-P-P-GlcNAc** (**Dol-P-P-GlcNAc**) es el lípido clave que actúa como un aceptor para otros azúcares en el montaje de Dol-P-P-oligosacárido. Se sintetiza en las membranas del retículo endoplásmico a partir de Dol-P y UDP-GlcNAc en la reacción que sigue, catalizada por la GlcNAc-P transferasa:

$$\text{Dol-P} + \text{UDP-GlcNAc} \rightarrow \text{Dol-P-P-GlcNAc} + \text{UMP}$$

La **figura 47-7** resume la reacción anterior —que es el primer paso en el montaje de Dol-P-P-oligosacárido— y las otras reacciones más tardías. Las características esenciales de los pasos subsiguientes en el montaje de Dol-P-P-oligosacárido son como sigue:

1. Un segundo residuo GlcNAc se añade al primero, de nuevo empleando UDP-GlcNAc como el donador.
2. Se añaden cinco residuos Man, usando GDP-manosa como el donador.

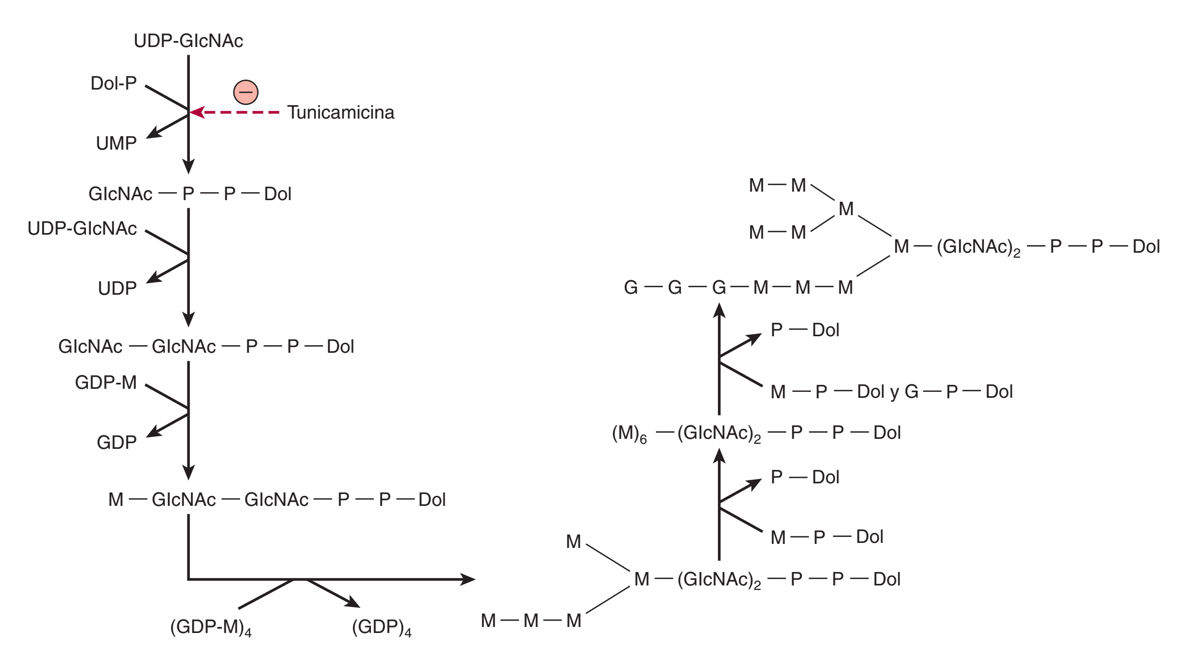


FIGURA 47–7 **Vías de biosíntesis del dolicol-P-P-oligosacárido.** Los enlaces específicos que se forman están indicados en la figura 47-8. Note que la GDP-manosa dona los primeros cinco residuos manosa internos, mientras que la dolicol-P-manosa y dolicol-P-glucosa donan los residuos manosa más externos y los residuos glucosa. (UDP, uridina difosfato; Dol, dolicol; P, fosfato; UMP, uridina monofosfato; GDP, guanosina difosfato; M, manosa; G, glucosa.)

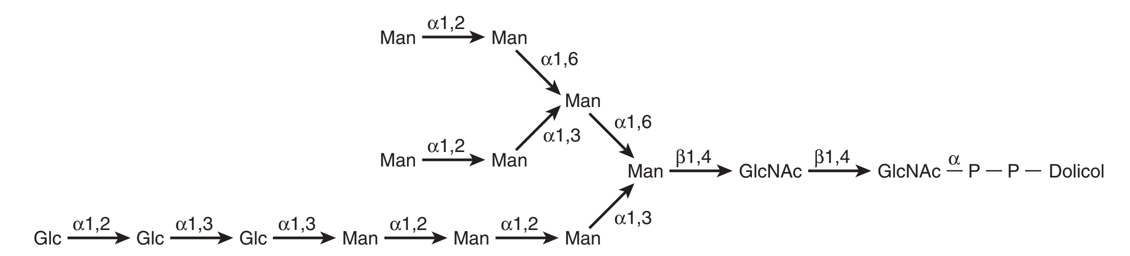


FIGURA 47–8 **Estructura del dolicol-P-P-oligosacárido.** (Tomada con autorización de Li E, *et al*.: Structure of the lipid-linked oligosaccharide precursor of the complex-type oligosaccharides of the vesicular stomatitis virus G protein. J Biol Chem 1978;253:7762.)

3. A continuación se agregan cuatro residuos Man adicionales, empleando Dol-P-Man como el donador. Dol-P-Man se forma mediante la reacción que sigue:

$$\text{Dol-P} + \text{GDP-Man} \rightarrow \text{Dol-P-Man} + \text{GDP}$$

4. Por último, los tres residuos de glucosa periféricos son donados por Dol-P-Glc, que se forma en una reacción análoga a la que acaba de presentarse, excepto porque los sustratos son Dol-P y UDP-Glc.

Cabe hacer notar que azúcares nucleótido donan los primeros siete azúcares (dos residuos GlcNAc y cinco Man), mientras que azúcares dolicol donan los últimos siete azúcares (cuatro residuos Man y tres Glc) añadidos. El resultado neto es montaje del compuesto que se ilustra en la **figura 47-8** y se llama de manera abreviada Dol-P-P-GlcNAc$_2$Man$_9$Glc$_3$.

El oligosacárido enlazado a dolicol-P-P se transfiere en bloque para formar un enlace *N*-glucosídico con uno o más residuos Asn específicos de una proteína aceptora que surge a partir de la superficie luminal de la membrana del retículo endoplásmico. La reacción es catalizada por **oligosacárido:proteína transferasa**, un complejo enzimático relacionado con membrana. La transferasa reconocerá y transferirá cualquier sustrato que tenga la estructura general Dol-P-P-(GlcNAc)$_2$-R, pero tiene una fuerte preferencia por la estructura Dol-P-P-GlcNAc$_2$ Man$_9$Glc$_3$. La glucosilación sucede en el residuo Asn de una secuencia tripeptídica Asn-XSer/Tre, donde X es cualquier aminoácido salvo prolina, ácido aspártico o ácido glutámico. Se favorece un sitio tripéptido contenido dentro de una vuelta β. Sólo alrededor de una tercera parte de los residuos Asn que son sitios aceptores potenciales en realidad se glucosila, lo que sugiere que también son importantes factores que no son el tripéptido.

Las proteínas aceptoras son de la clase de membrana tanto secretora como integral. Las proteínas citosólicas rara vez están glucosiladas. La **figura 47-9** presenta la reacción de transferencia y los procesos subsiguientes en la glucosilación de glucoproteínas *N*-enlazadas, junto con sus ubicaciones intracelulares. El otro producto de la reacción de oligosacárido:proteína transferasa es el dolicol-P-P, que luego se convierte en dolicol-P por medio de una fosfatasa. El dolicol-P puede servir de nuevo como un aceptor para la síntesis de otra molécula de Dol-P-P-oligosacárido.

Procesamiento de la cadena de oligosacárido

1. Fase temprana. En la figura 47-9 se indican las diversas reacciones involucradas. La oligosacárido:proteína transferasa cataliza la reacción 1 (véase antes). Las reacciones 2 y 3 comprenden la eliminación del residuo Glc terminal por la glucosidasa I, y de los siguientes dos residuos Glc por la glucosidasa II, respectivamente. En el caso de glucoproteínas **con alto contenido de manosa**, el proceso puede detenerse aquí, o también se pueden eliminar hasta cuatro residuos Man. Empero, para formar cadenas **complejas**, se necesitan pasos adicionales, como sigue. En las reacciones 4 y 5 se eliminan cuatro residuos Man externos mediante por lo menos dos manosidasas distintas. En la reacción 6, la GlcNAc transferasa I añade un residuo GlcNAc al residuo Man del extremo Man 1-3. La acción de esta última enzima permite que ocurra la reacción 7, una reacción catalizada por aun otra manosidasa (α-manosidasa II de Golgi) y que suscita una disminución de los residuos Man hacia el número central de tres (figura 47-5).

En las reacciones I y II de la figura 47-9 se indica una vía adicional importante. Esto incluye enzimas destinadas a **lisosomas**. Tales enzimas se dirigen hacia los lisosomas mediante un marcador químico específico. En la reacción I, un residuo GlcNAc-1-P se añade al carbono 6 de uno o más residuos Man específicos de estas enzimas. La reacción es catalizada por una GlcNAc fosfotransferasa, que usa UDPGlcNAc como el donador y genera UMP como el otro producto:

GlcNAc FOSFO-TRANSFERASA

UDP-GlcNAc + Man — proteína ⟶ GlcNAc-1-P-6-Man — proteína + UMP

En la reacción II, el GlcNAc se elimina por medio de la acción de una fosfodiesterasa, lo que deja los residuos Man fosforilados en la posición 6:

FOSFO-DIESTERASA

GlcNAc-1-P-6-Man — proteína ⟶ P-6-Man — proteína + GlcNAc

Los receptores de Man 6-P, localizados en el aparato de Golgi, se unen a los residuos Man 6-P de estas enzimas y los dirigen hacia los lisosomas. Los fibroblastos de pacientes con **enfermedad de célula I** (véase más adelante) muestran deficiencia grave de la actividad de la GlcNAc fosfotransferasa.

2. Fase tardía. Para montar la cadena de oligosacárido compleja típica, es necesario añadir azúcares adicionales a la estructura que se forma en la reacción 7. En consecuencia, en la reacción 8, se añade un segundo GlcNAc al residuo Man periférico del otro extremo de la estructura biantenaria que se muestra

FIGURA 47–9 Vía esquemática del procesamiento de oligosacárido. Las reacciones están catalizadas por las enzimas que siguen: ① oligosacárido:proteína transferasa; ② α-glucosidasa I; ③ α-glucosidasa II; ④ retículo endoplásmico α 1,2-manosidasa; I *N*-acetilglucosaminilfosfotransferasa; II *N*-acetilglucosamina-1-fosfodiéster α-*N*-acetilglucosaminidasa; ⑤ α-manosidasa I del aparato de Golgi; ⑥ *N*-acetilglucosaminiltransferasa I; ⑦ α-manosidasa II del aparato de Golgi; ⑧ *N*-acetilglucosaminiltransferasa II; ⑨ fucosiltransferasa; ⑩ galactosiltransferasa; ⑪ sialiltransferasa. Las flechas gruesas indican diversos azúcares nucleótido comprendidos en el esquema general. (Cuadrado rojo, *N*-acetilglucosamina; círculo verde, manosa; triángulo rojo, glucosa; triángulo verde, fucosa; círculo azul, galactosa; rombo rojo, ácido siálico.) (Reproducida, con autorización, de Kornfeld R, Kornfeld S: Assembly of asparagine-linked oligosaccharides. Annu Rev Biochem 1985;54:631. Copyright © 1985 por Annual Reviews. Reimpresa con autorización.)

en la figura 47-9; la enzima que cataliza este paso es la GlcNAc transferasa II. Las reacciones 9, 10 y 11 comprenden la adición de residuos Fuc, Gal y NeuAc en los sitios indicados, en reacciones catalizadas por fucosil, galactosil y sialil transferasas, respectivamente. El montaje de cadenas de poli-*N*-acetil-lactosamina requiere GlcNAc transferasas adicionales.

El retículo endoplásmico y el aparato de Golgi son los principales sitios de glucosilación

El retículo endoplásmico y el aparato de Golgi son los principales sitios involucrados en procesos de glucosilación (figura 47-9). El Dol-P-P-oligosacárido se monta en las superficies tanto citoplásmica como luminal de las membranas del ER. El oligosacárido se añade a proteína en el retículo endoplásmico rugoso en el transcurso de la traducción o después. El Glc y algunos de los residuos Man periféricos también se eliminan en el retículo endoplásmico. El aparato de Golgi está compuesto de cisternas *cis*, medial y *trans*; éstas se pueden separar mediante procesos de centrifugación apropiados. Las vesículas que contienen glucoproteínas brotan en el retículo endoplásmico y se transportan hacia el *cis*-Golgi. Varios estudios han mostrado que las enzimas involucradas en el procesamiento de glucoproteína muestran ubicaciones diferenciales en las cisternas del aparato de Golgi. La α-manosidasa I de Golgi (que cataliza la reacción 5) está localizada principalmente en el *cis*-Golgi, mientras que la GlcNAc transferasa I (que cataliza la reacción 6) parece estar localizada en el Golgi medial, y las fucosil, galactosil y sialil transferasas (que catalizan las reacciones 9, 10 y 11) están localizadas principalmente en el *trans*-Golgi. Las principales características de la biosíntesis de glucoproteínas *N*-enlazadas se resumen en el **cuadro 47-10**, y deben contrastarse con las listadas previamente (cuadro 47-9) para glucoproteínas *O*-enlazadas.

Algunos intermediarios glucano que se forman durante la *N*-glucosilación tienen funciones específicas

Las que siguen son varias funciones específicas de cadenas de *N*-glucano que se han establecido o se están investigando: 1) la participación de la **señal de manosa 6-P** en la dirección de ciertas enzimas lisosómicas está clara (véanse antes y la exposición sobre enfermedad de célula I, a continuación). 2) Es probable que las cadenas de *N*-glucano grandes presentes en glucoproteínas recién sintetizadas ayuden a mantener estas proteínas en el **estado soluble** dentro de la luz del retículo endoplásmico. 3) Se ha mostrado que una especie de cadenas de *N*-glucano participa

CUADRO 47–10 Resumen de las principales características de la *N*-glucosilación

• El oligosacárido $Glc_3Man_9(GlcNAc)_2$ se transfiere desde el dolicol-P-P-oligosacárido en una reacción catalizada por oligosacárido:proteína transferasa, que es inhibida por la tunicamicina.
• La transferencia sucede hacia residuos Asn específicos en la secuencia AsnX-Ser/Tre, donde X es cualquier residuo salvo Pro, Asp o Glu.
• La transferencia puede ocurrir de manera cotraduccional en el retículo endoplásmico.
• El oligosacárido unido a proteína a continuación se procesa parcialmente por glucosidasas y manosidasas; si no se añaden azúcares adicionales, esto produce una cadena con alto contenido de manosa.
• Si el procesamiento sucede por el pentasacárido central ($Man_5[GlcNAc]_2$), las cadenas complejas se sintetizan por medio de la adición de GlcNAc, la eliminación de dos Man, y la adición por pasos de azúcares individuales en reacciones catalizadas por transferasas específicas (p. ej., GlcNAc, Gal, NeuAc transferasas) que emplean azúcares nucleótido apropiados.

en el plegado y la retención de ciertas glucoproteínas en la luz del retículo endoplásmico. La **calnexina** es una proteína presente en la membrana del retículo endoplásmico, que actúa como un chaperón (cap. 46) y lectina. La unión a calnexina evita que se agregue una glucoproteína. Se ha hallado que la calnexina se unirá de modo específico a diversas glucoproteínas (p. ej., la hemaglutinina [HA] del virus de la influenza) que posee la **estructura central monoglucosilada**. Esta especie es el producto de la reacción 2 que se muestra en la figura 47-9, pero a partir de la cual se ha eliminado el residuo glucosa terminal, lo que sólo deja fija la glucosa más interna. La calnexina y la glucoproteína unida forman un complejo con **ERp57**, un homólogo de la proteína disulfuro isomerasa (PDI), que cataliza el intercambio de enlace disulfuro, lo que facilita el plegado apropiado. La glucoproteína unida se libera desde su complejo con calnexina-ERp57 cuando la única glucosa que queda es hidrolizada por la glucosidasa II y **abandona el ER si está plegada de manera apropiada**. Si **no está plegada de modo apropiado**, una **glucosil transferasa** del ER reconoce esto y **vuelve a glucosilar** la glucoproteína, que **vuelve a unirse** al complejo de calnexina-Erp57. Si ahora está plegada de manera apropiada, la glucoproteína vuelve a pasar por desglucosilación, y abandona el ER. Si carece de capacidad de plegado apropiado, se **transloca hacia afuera del ER** hacia el citoplasma, donde se **degrada** (compárese con la figura 46-8). Este denominado **ciclo de la calnexina** se ilustra en la **figura 47-10**. Así, la calnexina retiene ciertas glucoproteínas plegadas en parte (o plegadas de modo erróneo), y las libera cuando ha sucedido plegado adicional. La glucosil transferasa, al **detectar** el plegado de la glucoproteína y únicamente volver a glucosilar proteínas plegadas de manera errónea, es un componente

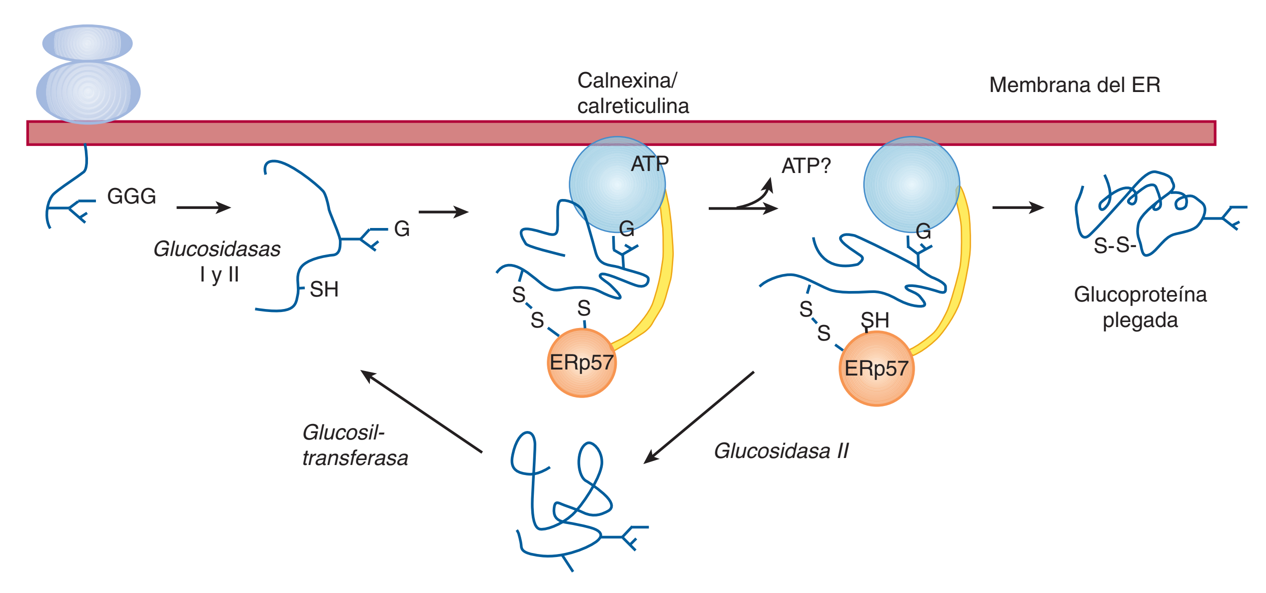


FIGURA 47–10 Modelo del ciclo de la calnexina. Conforme una cadena polipeptídica naciente (en crecimiento) entra en el ER, ciertos residuos Asn se glucosilan por medio de la adición de $Glc_3Man_9GlcNAc_2$ (véase el texto). Las dos moléculas de glucosa más externas se eliminan mediante las acciones de las glucosidasas I y II. Esto expone la molécula de glucosa más interna, que es reconocida por los sitios lectina de la calnexina y la calreticulina. En su estado unido a ATP, la calnexina y calreticulina se unen al oligosacárido monoglucosilado (por medio de sus sitios de lectina), así como a segmentos hidrofóbicos de la glucoproteína desdoblada (mediante sus sitios de unión a polipéptido o sitios chaperón). La disociación de glucoproteína incluye la acción de la glucosidasa II para eliminar la glucosa terminal, y un cambio de afinidad del sitio de unión a polipéptido. Después de disociación, si no sucede plegado con rapidez, la glucoproteína se vuelve a glucosilar por medio de una ER glucosiltransferasa, que sólo actúa sobre conformadores de proteína no naturales (conformador = una proteína en una de varias conformaciones posibles). La glucoproteína que se volvió a glucosilar entonces puede volver a unirse a la forma ATP de la calnexina/calreticulina. De esta manera, tanto la glucosiltransferasa como la calnexina/calreticulina actúan como detectores de plegado. Este ciclo de unión y liberación tiene tres funciones: evita agregación de glucoproteína; retiene conformadores no naturales en el ER en tanto no se adquiere una estructura natural (control de calidad), y la unión a calnexina/calreticulina acerca a ERp57 a la glucoproteína no natural. El ERp57 cataliza la formación de enlace disulfuro y la isomerización dentro del sustrato glucoproteína, lo que le ayuda a adoptar su conformación natural. Si la glucoproteína es incapaz de plegarse de modo apropiado, se transloca hacia afuera del ER hacia el citoplasma para degradación proteosómica (compárese con la figura 46-8). La calreticulina, una proteína soluble del ER, desempeña una función similar a la de la calnexina. (G, glucosa.) (La figura y el pie de figura fueron proporcionados generosamente por el Dr. D B Williams, y se modificaron un poco con su autorización.)

clave del ciclo. El ciclo de la calnexina es un componente importante de los **sistemas de control de calidad** que operan en la luz del ER. La proteína soluble del ER **calreticulina** desempeña una función similar.

Varios factores regulan la glucosilación de glucoproteínas

Es evidente que la glucosilación de glucoproteínas es un proceso complejo que involucra gran número de enzimas. Se ha estimado que alrededor de 1% del genoma humano tal vez esté involucrado en eventos de glucosilación. Otro índice de su complejidad es que se han reportado más de 10 GlcNAc transferasas distintas que participan en la biosíntesis de glucoproteínas, y otras son en teoría posibles. También hay múltiples especies de las otras glucosiltransferasas (p. ej., sialiltransferasas). El control de los factores de la primera etapa de la biosíntesis de glucoproteínas *N*-enlazadas (es decir, **montaje y transferencia de oligosacárido**) incluye: 1) la presencia de sitios aceptores idóneos en proteínas, 2) las cifras de Dol-P en tejido y 3) la actividad de la oligosacárido: proteína transferasa.

En el **cuadro 47-11** se muestran algunos factores que se conoce que intervienen en la regulación del **procesamiento de oligosacárido**. Dos de los puntos listados ameritan más comentario: en primer lugar, las **variaciones de especie** entre enzimas de procesamiento han adquirido importancia respecto a la producción de glucoproteínas de uso terapéutico por medio de tecnología de DNA recombinante. Por ejemplo, la **eritropoyetina recombinante** (epoetina alfa; EPO) a veces se administra a enfermos que tienen ciertos tipos de anemia crónica, con el fin de estimular la eritropoyesis. La vida media de la EPO en el plasma está influida por la naturaleza de su modelo de glucosilación; ciertos modelos muestran vínculo con vida media breve, lo que limita de manera apreciable su periodo de eficacia terapéutica. De esta manera, es importante recolectar EPO a partir de células huésped que confieren un modelo de glucosilación congruente con una vida media normal en el plasma. En segundo lugar, hay gran interés por analizar las actividades de enzimas procesadoras de glucoproteína en diversos tipos de **células cancerosas**. A menudo se ha encontrado que estas células sintetizan diferentes cadenas de oligosacárido (p. ej., suelen mostrar mayor ramificación) en comparación con las que se sintetizan en células testigo. Esto quizá se deba a las células cancerosas que contienen modelos de glucosil transferasas distintos de aquellos que muestran células normales correspondientes, como resultado de activación o represión de gen específico. Las diferencias de las cadenas de oligosacárido podrían afectar las interacciones adhesivas entre células cancerosas y sus células hísticas originales normales, lo que contribuye a metástasis. Si pudiera hallarse una correlación entre la actividad de enzimas procesadoras particulares y las **propiedades metastásicas** de células cancerosas, esto podría tener importancia puesto que podría permitir la síntesis de fármacos para inhibir estas enzimas y, de modo secundario, metástasis.

Los genes que codifican para muchas glucosil transferasas ya se han **clonado** y otros se encuentran en estudio. La clonación ha revelado nueva información sobre estructuras tanto de proteína como de gen. Esto último también debe aclarar los mecanismos involucrados en su **control transcripcional**, y se están empleando **estudios de noqueo de gen** para evaluar la importancia biológica de diversas glucosiltransferasas.

CUADRO 47–11 Algunos factores que afectan las actividades de enzimas procesadoras de glucoproteína

Factor	Comentario
Tipo de célula	Diferentes tipos de células contienen distintos perfiles de enzimas de procesamiento.
Enzima previa	Ciertas glucosiltransferasas únicamente actúan sobre una cadena de oligosacárido si otra enzima procesadora ya ha actuado sobre el mismo.[1]
Desarrollo	El perfil celular de enzimas de procesamiento puede cambiar durante el desarrollo si sus genes se activan o desactivan.
Ubicación intracelular	Por ejemplo, si una enzima está destinada para inserción en la membrana del ER (p. ej., HMG-CoA reductasa), puede nunca hallar enzimas procesadoras ubicadas en el aparato de Golgi.
Conformación de proteína	Las diferencias de la conformación de distintas proteínas pueden facilitar u obstaculizar el acceso de enzimas procesadoras a cadenas de oligosacárido idénticas.
Especies	Las mismas células (p. ej., fibroblastos) de diferentes especies pueden mostrar distintos modelos de enzimas de procesamiento.
Cáncer	Las células cancerosas pueden mostrar enzimas de procesamiento diferentes de las de células normales correspondientes.

[1]Por ejemplo, la acción de la α-manosidasa II del aparato de Golgi necesita la acción previa de la GlcNAc transferasa I.

La tunicamicina inhibe la *N*-glucosilación, no así la *O*-glucosilación

Se sabe que varios compuestos inhiben diversas reacciones involucradas en el procesamiento de glucoproteína. La **tunicamicina**, **deoxinojirimicina** y **swainsonina** son tres de esos agentes. En el **cuadro 47-12** se indican las reacciones que inhiben. Estos agentes pueden usarse de manera experimental para inhibir diversas etapas de la biosíntesis de glucoproteínas, y para estudiar los efectos de alteraciones específicas sobre el proceso. Por ejemplo, si se hace crecer a las células en presencia de tunicamicina, no ocurrirá glucosilación de sus glucoproteínas normalmente *N*-enlazadas. En ciertos casos, se ha mostrado que la falta de glucosilación aumenta la susceptibilidad de estas proteínas a proteólisis. La inhibición de la glucosilación no parece tener un efecto constante sobre la secreción de glucoproteínas que se secretan de manera normal. Los inhibidores del procesamiento de glucoproteína listados en el cuadro 47-12 no afectan la biosíntesis de glucoproteínas *O*-enlazadas. La extensión de las cadenas *O*-enlazadas se puede impedir mediante GalNAc-benzil. Este compuesto compite con sustratos glucoproteína naturales y, de esta manera, evita el crecimiento de la cadena más allá de GalNAc.

CUADRO 47–12 Tres inhibidores de enzimas involucrados en la *N*-glucosilación de glucoproteínas y sus sitios de acción

Inhibidor	Sitio de acción
Tunicamicina	Inhibe a la GlcNAc-P transferasa, la enzima que cataliza la adición de GlcNAc a dolicol-P, el primer paso en la biosíntesis de oligosacárido-P-P-dolicol
Desoxinojirimicina	Inhibidor de las glucosidasas I y II
Swainsonina	Inhibidor de la manosidasa II

ALGUNAS PROTEÍNAS ESTÁN FIJAS A LA MEMBRANA PLASMÁTICA POR MEDIO DE ESTRUCTURAS GLUCOSILFOSFATIDILINOSITOL (GPI)

Las glucoproteínas enlazadas a GPI comprenden la tercera clase importante de glucoproteínas. En la figura 47-1 se muestra la estructura de GPI (en ocasiones llamada un “pie pegajoso”) involucrada en el enlace de la enzima acetilcolinesterasa (ACh esterasa) a la membrana plasmática del eritrocito. Las proteínas enlazadas a GPI están fijas a la hojuela externa de la membrana plasmática mediante los ácidos grasos del fosfatidilinositol (PI). El PI está enlazado por medio de una porción GlcN a una cadena de glucano que contiene varios azúcares (p. ej., Man, GlcN). A su vez, la cadena de oligosacárido está enlazada mediante fosforiletanolamina en un enlace amida al aminoácido carboxilo terminal de la proteína fija. El centro de casi todas las estructuras de GPI contiene una molécula de fosforiletanolamina, tres residuos Man, una molécula de GlcN, y una molécula de fosfatidilinositol, como sigue:

Etanolamina-fosfo → 6Manα1 →
2Manα1 → 6Manα1 → GlcNα1 →
6 — *mio* – inositol –1– fosfolípido

Otros constituyentes se encuentran en muchas estructuras de GPI; por ejemplo, el que se muestra en la figura 47-1 contiene una fosforiletanolamina adicional fija a la parte media de las tres porciones Man del glucano, y un ácido graso extra fijo a GlcN. No se entiende la importancia funcional de estas variaciones entre estructuras. Este tipo de enlace se detectó por vez primera por medio del uso de fosfolipasa C específica para PI (PI-PLC) bacteriana, que se encontró que libera ciertas proteínas de la membrana plasmática de células al dividir el enlace que se indica en la figura 47-1. En el **cuadro 47-13** se proporcionan ejemplos de algunas proteínas que se fijan mediante este tipo de enlace. Se han sugerido al menos tres funciones posibles de este tipo de enlace: 1) el ancla de GPI quizá permita gran incremento de la **movilidad** de una proteína en la membrana plasmática en comparación con la que se observa para una proteína que contiene secuencias transmembrana. Esto tal vez no sorprende, dado que el ancla de GPI sólo está fija a la hojuela externa de la bicapa lipídica, de modo que está más libre para difundirse que una proteína fija por medio de ambas hojuelas de la bicapa. La movilidad aumentada puede ser importante en la facilitación de respuestas rápidas a estímulos apropiados. 2) Algunas anclas de GPI quizá se conectan con vías de **transducción de señal**. 3) Se ha mostrado que las estructuras de GPI pueden **dirigir** ciertas proteínas hacia dominios apicales y también dominios basolaterales de la membrana plasmática de ciertas células epiteliales polarizadas. La biosíntesis de anclas de GPI es compleja y empieza en el retículo endoplásmico. El ancla de GPI se monta de manera independiente mediante una serie de reacciones catalizadas por enzima, y luego se transfiere hacia el extremo carboxilo terminal de su proteína aceptora, acompañada por división del péptido hidrofóbico carboxilo terminal preexistente de esa proteína. Este proceso a veces se denomina **glupiación**. Un defecto adquirido en una etapa temprana de la biosíntesis de la estructura del GPI ha quedado implicado en la causa de la **hemoglobinuria paroxística nocturna** (véase más adelante).

CUADRO 47–13 Algunas proteínas enlazadas a GPI

• Acetilcolinesterasa (membrana eritrocítica)
• Fosfatasa alcalina (intestinal, placentaria)
• Factor acelerador de la descomposición (membrana eritrocítica)
• 5′-Nucleotidasa (linfocitos T, otras células)
• Antígeno Thy-1 (cerebro, linfocitos T)
• Glucoproteína de superficie variable (*Trypanosoma brucei*)

SE CREE QUE LOS PRODUCTOS TERMINALES DE LA GLUCACIÓN AVANZADA (AGE) TIENEN IMPORTANCIA EN LA CAUSA DEL DAÑO DE TEJIDO EN LA DIABETES MELLITUS

Glucación se refiere a la fijación no enzimática de azúcares (principalmente glucosa) a grupos amino de proteínas, y a otras moléculas (p. ej., DNA, lípidos). La glucación se distingue de la **glucosilación** porque esta última incluye la fijación de azúcares catalizada por enzima. Cuando la glucosa se une a una proteína, los productos intermedios que se forman comprenden **bases Schiff**. Éstas pueden reordenarse más por medio del **reordenamiento de Amadori** hacia **cetoaminas** (**figura 47-11**). La serie general de reacciones se conoce como la **reacción de Maillard**. Estas reacciones participan en el **dorado** de algunos alimentos que sucede con el almacenamiento o el procesamiento (p. ej., calentamiento). Los productos terminales de las reacciones de glucación se llaman **productos terminales de glucación avanzada** (**AGE**).

El principal interés médico por los AGE se ha relacionado con que estos productos producen **daño de tejido en la diabetes mellitus**, en la cual la concentración de glucosa en la sangre a

Hb—NH$_2$ + O=C—H ⇌ Hb—N=C—N —(Reordenamiento de Amadori)→ Hb—NH—CH$_2$ → Reordenamientos adicionales

H—C—OH (Glucosa) | H—C—OH (Hb glucada (base Schiff)) | C=O (Hb A$_{1C}$ (cetoamina))

FIGURA 47–11 Formación de AGE a partir de glucosa. La glucosa se muestra interactuando con el grupo aminoácido de la hemoglobina (Hb), lo que forma una base de Schiff. Esto está sujeto al reordenamiento de Amadori, lo cual forma una cetoamina. Pueden ocurrir más reordenamientos, y ello conduce a otros AGE.

menudo está constantemente alta, lo que promueve incremento de la glucación. A intervalos constantes, la magnitud de la glucación es más o menos proporcional a las cifras de glucosa en la sangre. También se ha sugerido que los AGE participan en otros procesos, como el **envejecimiento**.

La glucación de colágeno y otras proteínas en el ECM altera sus propiedades (p. ej., aumenta el **entrecruzamiento de colágeno**). El entrecruzamiento puede llevar a acumulación de diversas proteínas plasmáticas en las paredes de los vasos sanguíneos; en especial, la acumulación de **LDL** puede contribuir a **aterogénesis**. Los AGE parecen estar involucrados en el daño tanto **microvascular** como **macrovascular** en la diabetes mellitus (**figura 47-12**). Asimismo, las células endoteliales y los macrófagos tienen receptores de AGE sobre su superficie. La captación por estos receptores de proteínas glucadas puede activar el factor de transcripción **NF-κB** (cap. 50), lo que genera diversas **citocinas** y **moléculas proinflamatorias**. Así, se cree que los AGE son un contribuidor importante a algunos de los datos patológicos que se encuentran en la diabetes mellitus. La fijación no enzimática de glucosa a la **hemoglobina A** presente en los eritrocitos (esto es, formación de **HbA$_{1c}$**) ocurre en individuos normales, y está incrementada en sujetos con diabetes mellitus cuyas concentraciones de azúcar en la sangre están altas. La medición de la HbA$_{1c}$ se ha convertido en una parte muy importante del **manejo de pacientes con diabetes mellitus** (cap. 6).

LAS GLUCOPROTEÍNAS PARTICIPAN EN MUCHOS PROCESOS BIOLÓGICOS Y EN MUCHAS ENFERMEDADES

Las glucoproteínas tienen muchas funciones (cuadro 47-1); algunas ya se han abordado en este capítulo, y otras se describen en otros lugares de este libro (p. ej., moléculas de transporte, moléculas inmunitarias y hormonas). Aquí se describe de manera breve su participación en dos procesos específicos: **fecundación** e **inflamación**. Más aún, se resumirán las **bases de diversas enfermedades** que se deben a anormalidades de la síntesis y degradación de glucoproteínas.

Las glucoproteínas son importantes en la fecundación

Para llegar a la membrana plasmática de un oocito, un espermatozoide tiene que cruzar la **zona pelúcida** (**ZP**), una envoltura no celular gruesa y transparente que rodea al oocito. La zona pelúcida contiene tres glucoproteínas de interés: ZP1 a 3. Vale la pena notar en particular la ZP3, una glucoproteína *O*-enlazada que funciona como un receptor para el espermatozoide. Una proteína sobre la superficie del espermatozoide, posiblemente

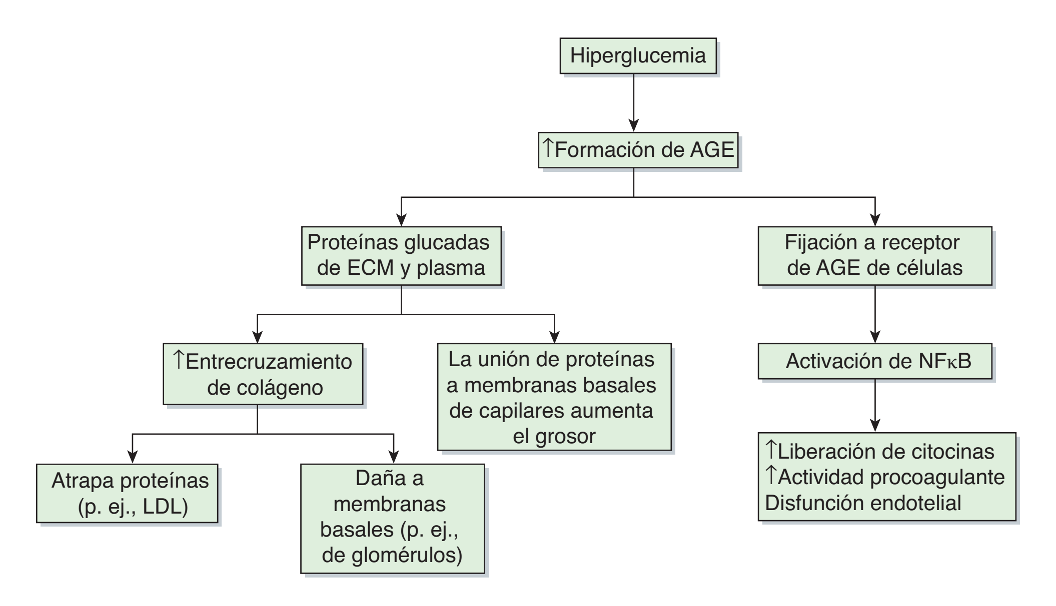


FIGURA 47-12 Algunas consecuencias de la formación de AGE. La hiperglucemia (p. ej., la que sucede en la diabetes mal controlada) da pie a la formación de AGE. Éstos pueden ocurrir en proteínas del ECM o en el plasma. En el ECM, pueden causar aumento del entrecruzamiento de colágeno, que puede atrapar proteínas como LDL (lo que contribuye a la aterogénesis) y dañar membranas basales en los riñones y otros sitios. El engrosamiento de las membranas basales también puede suceder por unión de proteínas glucadas a ellas. Los AGE pueden fijarse a receptores de AGE sobre células, lo que activa al NFκB (cap. 50); ello tiene varias consecuencias (como se muestra). En la diabetes mellitus activa no controlada se encuentran daño de las membranas basales renales, engrosamiento de estas membranas en capilares, y disfunción endotelial.

galactosil transferasa, interactúa de modo específico con cadenas de oligosacárido de ZP3; en por lo menos ciertas especies (p. ej., el ratón), esta interacción, mediante emisión de señales transmembrana, induce la **reacción acrosómica**, en la cual se liberan enzimas como las proteasas y la hialuronidasa, y otros contenidos del acrosoma del espermatozoide. La liberación de estas enzimas ayuda al espermatozoide a pasar por la zona pelúcida y llegar a la membrana plasmática (PM) del oocito. En hámsteres se ha mostrado que otra glucoproteína, PH-30, tiene importancia tanto en la unión de la PM del espermatozoide a la PM del oocito, como en la fusión subsiguiente de ambas membranas; estas interacciones permiten al espermatozoide entrar al oocito y, de esta manera, fecundarlo. Quizá sea posible **inhibir la fecundación** al crear medicamentos o anticuerpos que interfieran con las funciones normales de ZP3 y PH-30 y que, de este modo, actuarían como anticonceptivos.

Las selectinas desempeñan funciones clave en la inflamación y en la localización preferente de linfocitos

Los **leucocitos** desempeñan funciones importantes en muchos fenómenos inflamatorios e inmunitarios. Los primeros pasos en muchos de estos fenómenos son interacciones entre leucocitos circulantes y **células endoteliales** antes del paso de los primeros hacia afuera de la circulación. La investigación llevada a cabo para identificar moléculas específicas sobre la superficie de las células involucradas en esas interacciones ha revelado que los leucocitos y las células endoteliales contienen sobre su superficie lectinas específicas, denominadas **selectinas**, que participan en su adherencia intercelular. El **cuadro 47-14** resume características de las tres clases principales de selectinas. Las selectinas son proteínas transmembrana, de cadena única, de unión a Ca^{2+}, que contienen varios dominios (**figura 47-13**). Sus extremos amino terminal contienen el dominio lectina, que participa en la unión a ligandos de carbohidrato específicos.

Cabe considerar que la adherencia de neutrófilos a células endoteliales de vénulas poscapilares sucede en cuatro etapas (**figura 47-14**). La etapa basal inicial ocurre al producir **lentificación o rodamiento** de neutrófilos, lo cual está mediado por selectinas. Participan interacciones entre L-selectina sobre la superficie del neutrófilo, y CD34 y GluCAM-1 u otras glucoproteínas sobre la superficie endotelial. Estas interacciones particulares inicialmente son breves, y la unión general es de afinidad relativamente baja, lo que permite el rodamiento. Con todo, en el transcurso de esta etapa sucede **activación** de los neutrófilos por diversos mediadores químicos (véase más adelante), lo que ocasiona un cambio de la forma de los neutrófilos y adherencia firme de estas células al endotelio. Otro grupo de **moléculas de adherencia** participa en la adhesión firme, a saber, LFA-1 y Mac-1 sobre los neutrófilos, e ICAM-1 e ICAM-2 sobre células endoteliales. LFA-1 y Mac-1 son integrinas CD11/CD18 (en el cap. 52 se presenta una exposición sobre las integrinas), mientras que ICAM-1 e ICAM-2 son miembros de la superfamilia de inmunoglobulina. La cuarta etapa es la **transmigración** de los neutrófilos a través de la pared endotelial. Para que ocurra esto, los neutrófilos insertan seudópodos en las uniones entre células endoteliales, pasan a través de estas uniones, cruzan la membrana basal, y después están libres para migrar hacia el espacio extravascular. Se ha hallado que la molécula de adherencia entre plaquetas y células endoteliales-1 (PECAM-1) está localizada en las uniones de células endoteliales y, así, tal vez tenga una función en la transmigración. Se ha encontrado que diversas biomoléculas participan en la **activación** de neutrófilos y células endoteliales, entre ellas factor de necrosis tumoral, diversas interleucinas, factor activador de plaquetas (PAF), leucotrieno B_4, y ciertos fragmentos del complemento. Estos compuestos estimulan diversas vías emisoras de señal, lo que se traduce en cambios de la forma y función de la célula, y algunas también son quimiotácticas. Un cambio funcional importante es el

CUADRO 47–14 Algunas moléculas involucradas en interacciones entre leucocitos y célula endotelial

Molécula	Célula	Ligandos
Selectinas		
L-selectina	PMN, linf.	CD34, Gly-CAM-[1], sialil-Lewis^x, y otros
P-selectina	EC, plaquetas	Ligando glucoproteína de P-selectina-1 (PSGL-1), sialil-Lewis^x, y otros
E-selectina	EC	Sialil-Lewis^x y otros
Integrinas		
LFA-1	PMN, linf.	ICAM-1, ICAM-2
(CD11a/CD18)		
Mac-1	PMN	ICAM-1 y otros
(CD11b/CD18)		
Superfamilia de inmunoglobulina		
ICAM-1	Linf., EC	LFA-1, Mac-1
ICAM-2	Linf., EC	LFA-1
PECAM-1	EC, PMN, linf.	Diversas plaquetas

Fuente: Modificado, con autorización, de Albelda SM, Smith CW, Ward PA: Adhesion molecules and inflammatory injury. FASEB J 1994;8:504.
Abreviaturas: PMN, leucocitos polimorfonucleares; EC, célula endotelial; Linf., linfocitos; CD, agrupación de diferenciación; ICAM, molécula de adherencia intercelular; LFA-1, antígeno vinculado con la función de linfocito-1; PECAM-1, molécula de adherencia entre plaquetas y células endoteliales-1.
[1]Éstos son ligandos para L-selectina de linfocito; los ligandos para L-selectina de neutrófilo al parecer no se han identificado.

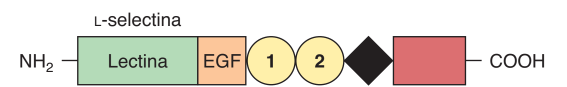


FIGURA 47–13 Diagrama esquemático de la estructura de la L-selectina humana. La porción extracelular contiene un dominio amino terminal homólogo a las lectinas tipo C, y un dominio parecido a factor de crecimiento epidérmico adyacente. Éstos van seguidos por un número variable de módulos parecidos a reguladores del complemento (círculos numerados) y una secuencia transmembrana (rombo negro). Una secuencia citoplásmica corta (rectángulo rojo) está en el carboxilo terminal. Las estructuras de la P y E selectina son similares a las que se muestran, excepto porque contienen más módulos reguladores de complemento. Los números de aminoácidos en L-, P- y E-selectinas, como se deduce a partir de las secuencias de cDNA, son 385, 789 y 589, respectivamente. (Reproducida, con autorización, de Bevilacqua MP, Nelson RM: Selectins. J Clin Invest 1993;91:370.)

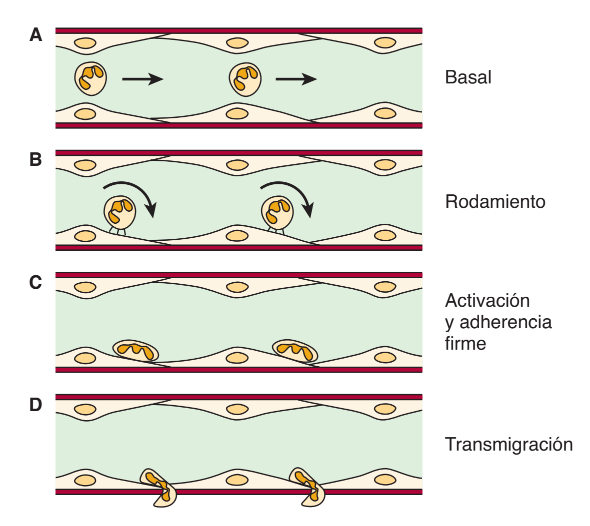


FIGURA 47–14 Diagrama esquemático de las interacciones entre neutrófilos y célula endotelial. A) Condiciones basales: los neutrófilos no se adhieren a la pared del vaso. **B)** El primer evento es la lentificación o rodamiento de los neutrófilos dentro del vaso (vénula), mediado por selectinas. **C)** Ocurre activación, lo que hace que los neutrófilos se adhieran firmemente a la superficie de células endoteliales y que adopten una forma aplanada. Esto necesita interacción de integrinas CD18 activadas sobre neutrófilos con ICAM-1 sobre el endotelio. **D)** Los neutrófilos a continuación migran a través de las uniones de las células endoteliales hacia el tejido intersticial; esto requiere la participación de PECAM-1. La quimiotaxis también está involucrada en esta última etapa. (Reproducida, con autorización, de Albelda SM, Smith CW, Ward PA: Adhesion molecules and inflammatory injury. FASEB J 1994;8;504.)

reclutamiento de selectinas hacia la superficie celular, puesto que en algunos casos las selectinas se almacenan en gránulos (p. ej., en células endoteliales y plaquetas).

Se ha determinado la naturaleza química precisa de algunos de los ligandos involucrados en las interacciones entre selectina y ligando. Las tres selectinas se unen a **oligosacáridos sialilados y fucosilados**, y en particular las tres se unen a **sialil-Lewis^x** (**figura 47-15**), una estructura presente tanto en las glucoproteínas como en los glucolípidos. No se ha establecido si este compuesto es el ligando real involucrado *in vivo.* Las moléculas sulfatadas, como las sulfatidas (cap. 15), pueden ser ligandos en ciertas circunstancias. Este conocimiento básico se está empleando en intentos por sintetizar compuestos que bloquean interacciones entre selectina y ligando y que, de esta manera, quizá inhiban la respuesta inflamatoria. Los métodos incluyen administración de anticuerpos monoclonales específicos o de análogos de sialil-Lewis^x sintetizados químicamente, de los cuales ambos se unen a selectinas. Las **células cancerosas** suelen mostrar sialil-Lewis^x y otros ligandos de selectina sobre su superficie. Se cree que estos ligandos participan en la invasión y metástasis de células cancerosas.

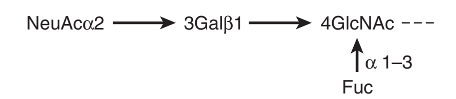


FIGURA 47–15 Representación esquemática de la estructura de sialil-Lewis^x.

CUADRO 47-15 Algunas enfermedades debidas a (o que involucran) anormalidades de la biosíntesis de glucoproteínas

Enfermedad	Anormalidad
Cáncer	La ramificación incrementada de glucanos de superficie celular o la presentación de ligandos de selectina puede ser importante en metástasis.
Trastornos congénitos de la glucosilación[1]	Véase el cuadro 47-16.
HEMPAS[2] (OMIM 224100)	Anormalidades de ciertas enzimas (p. ej., manosidasa II y otras) involucradas en la biosíntesis de *N*-glucanos, en especial las que afectan la membrana eritrocítica.
Deficiencia de adherencia de leucocito, tipo II (OMIM 266265)	Probablemente mutaciones que afectan un transportador de GTP-fucosa ubicado en el aparato de Golgi, que ocasionan fucosilación defectuosa.
Hemoglobinuria paroxística nocturna (PNH) (OMIM 311770)	Defecto adquirido de la biosíntesis de las estructuras de GPI[3] del factor acelerador de la descomposición (DAF) y CD59.
Enfermedad de célula I (OMIM 252500)	Deficiencia de la GlcNAc fosfotransferasa, que se traduce en dirección anormal de ciertas enzimas lisosómicas.

[1] El número de OMIM para el trastorno congénito de la glucosilación tipo Ia es 212065.
[2] Multinuclearidad eritroblástica hereditaria con un resultado positivo de una prueba de hemólisis en suero acidificado (anemia diseritropoyética congénita tipo II). Ésta es una forma relativamente leve de anemia. Refleja al menos en parte la presencia en las membranas eritrocíticas de diversas glucoproteínas con cadenas de *N*-glucano anormales, que contribuyen a la susceptibilidad a lisis.
[3] Glucosilfosfatidilinositol.

Ciertas enfermedades dependen de anormalidades de la síntesis de glucoproteínas

El **cuadro 47-15** lista varias enfermedades en las cuales son de importancia las anormalidades de la síntesis de glucoproteínas. Como se mencionó, muchas **células cancerosas** muestran diferentes perfiles de cadenas de oligosacárido sobre su superficie, algunas de las cuales tal vez contribuyan a metástasis.

Los **trastornos congénitos de la glucosilación** (**CDG**) son un grupo de patologías de considerable interés actual. En el **cuadro 47-16** se resumen las principales características de estas enfermedades.

La **deficiencia de adherencia de leucocitos** (**LAD**) **II** es una rara enfermedad que probablemente se debe a mutaciones que afectan la actividad de un transportador de GTP-fucosa localizado en el aparato de Golgi. Puede considerarse un trastorno congénito de la glucosilación. La falta de ligandos fucosilados para selectinas lleva a una notoria aminoración del rodamiento de neutrófilos. Los enfermos sufren infecciones bacterianas recurrentes, que ponen en peligro la vida, y retraso psicomotor y mental. La enfermedad parece mostrar respuesta a la fucosa por vía oral.

La **multinuclearidad eritroblástica hereditaria con resultado positivo de una prueba de hemólisis en suero acidificado** (**HEMPAS**) —anemia diseritropoyética congénita tipo II— es otro trastorno en el cual se cree que participan anormalidades en el procesamiento de *N*-glucanos. Se ha afirmado que algunos casos se deben a defectos de la alfa-manosidasa II.

La **hemoglobinuria paroxística nocturna** (**PNH**) es una anemia leve adquirida que se caracteriza por la presencia de

CUADRO 47–16 Principales características de los trastornos congénitos de la glucosilación

• Trastornos autosómicos recesivos
• Trastornos de múltiples sistemas que probablemente no se han reconocido en el pasado
• Por lo general afectan el sistema nervioso, lo que da por resultado retraso psicomotor y otras características
• Los trastornos tipo I se deben a mutaciones en genes que codifican para enzimas (p. ej., fosfomanomutasa-2 [PMN-2], que origina CDG Ia) involucradas en la síntesis de dolicol-P-P-oligosacárido
• Los trastornos tipo II se deben a mutaciones en genes que codifican para enzimas (p. ej., GlcNAc transferasa-2, que causa CDG IIa) involucrada en el procesamiento de cadenas de *N*-glucano
• Se han reconocido al menos 15 trastornos distintos
• El enfoque isoeléctrico de la transferrina es una prueba bioquímica útil para ayudar en el diagnóstico de estas enfermedades; el truncado de las cadenas de oligosacárido de esta proteína altera su modelo de enfoque isoeléctrico
• La manosa por vía oral ha resultado beneficiosa en el tratamiento de CDG Ia

Abreviatura: CDG, trastorno congénito de la glucosilación.

hemoglobina en la orina debido a hemólisis de eritrocitos, en particular durante el sueño. Este último fenómeno quizá refleje una reducción leve del pH plasmático durante el sueño, lo que aumenta la susceptibilidad a lisis por el sistema de complemento (cap. 50). El defecto básico en la PNH es la adquisición de mutaciones somáticas en el gen *PIG-A* (que significa fosfatidilinositol glucano clase A) de ciertas células hematopoyéticas. El producto de este gen parece ser la enzima que enlaza la glucosamina al fosfatidilinositol en la estructura del GPI (figura 47-1). De este modo, las proteínas que están fijas por medio de un enlace de GPI son deficientes en la membrana eritrocítica. Dos proteínas despiertan especial interés: el **factor acelerador de la descomposición** (**DAF**) y otra proteína designada **CD59**. En circunstancias normales éstas interactúan con ciertos componentes del sistema de complemento (cap. 50) a fin de impedir las acciones hemolíticas de este último. Aun así, cuando son deficientes, el sistema de complemento puede actuar sobre la membrana eritrocítica y dar por resultado hemólisis. Un anticuerpo monoclonal contra C5, un componente terminal del sistema de complemento, ha resultado útil en el manejo de PNH al inhibir la cascada de complemento. La PNH se puede diagnosticar de manera relativamente simple, dado que los eritrocitos son considerablemente más sensibles a hemólisis en suero normal acidificado a pH de 6.2 (prueba de Ham); el sistema de complemento se activa en estas condiciones, pero las células normales no quedan afectadas. En la **figura 47-16** se resume la causa de la PNH.

El estudio de las **distrofias musculares congénitas** (**CMD**) ha revelado que algunas de ellas (p. ej., el síndrome de Walker-Warburg, la enfermedad músculo-ojo-cerebro, la CMD de Fukuyama) son el resultado de defectos de la síntesis de glucanos en la proteína α-distroglucano (α-DG). Esta proteína sobresale desde la membrana de superficie de las células musculares, e interactúa con la laminina-2 (merosina) en la lámina basal (figura 49-11). Si los glucanos de α-DG no se forman de modo correcto (como resultado de mutaciones en genes que codifican para ciertas glucosiltransferasas), esto origina interacción defectuosa

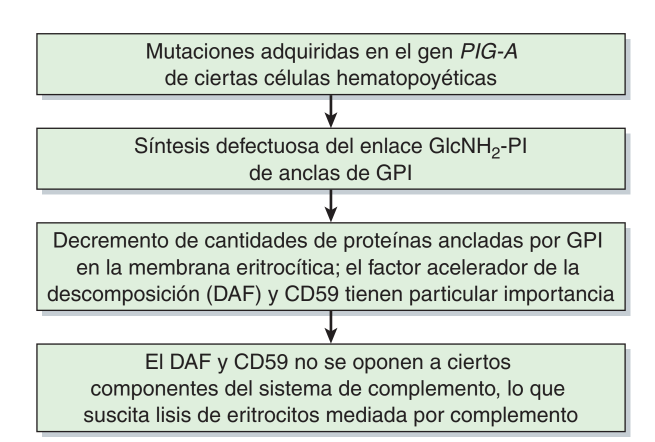


FIGURA 47–16 Esquema de la causa de la hemoglobina paroxística nocturna (OMIM 311770).

de α-DG con la laminina, que a su vez conduce a la aparición de una CMD.

La **artritis reumatoide** muestra vínculo con una alteración de la glucosilación de moléculas de inmunoglobulina G (IgG) circulantes (cap. 50), de manera que carecen de lactosa en sus regiones Fc y terminan en GlcNAc. La **proteína de unión a manosa** (MBP, que no debe confundirse con el receptor de manosa 6-P), una lectina C sintetizada por las células del hígado y secretada hacia la circulación, se une a manosa, GlcNAc y algunos otros azúcares. Así, puede unirse a moléculas de agalactosil IgG, que luego activan el sistema de complemento (cap. 50), lo que contribuye a inflamación crónica en las membranas sinoviales de articulaciones.

La **MBP** también puede unirse a los azúcares anteriores cuando están presentes sobre la superficie de ciertas bacterias, hongos y virus, lo que prepara a estos agentes patógenos para opsonización o para destrucción por el sistema de complemento. Éste es un ejemplo de **inmunidad innata**, que no involucra inmunoglobulinas o linfocitos T. La deficiencia de esta proteína en lactantes de corta edad como resultado de mutación los hace muy susceptibles a **infecciones recurrentes**.

La enfermedad de célula I se produce por dirección defectuosa de enzimas lisosómicas

Como se indicó, Man 6-P sirve como un marcador químico para dirigir ciertas enzimas lisosómicas a ese organelo. El análisis de fibroblastos en cultivo derivados de individuos con enfermedad de célula I (célula de inclusión) tuvo una participación importante en revelar la función anterior de Man 6-P. La enfermedad de célula I es una enfermedad rara caracterizada por retraso psicomotor intenso y progresivo, y diversos signos físicos; la muerte a menudo sucede durante el primer decenio de la vida. Se halló que las células en cultivo de sujetos con enfermedad de célula I carecen de casi todas las enzimas lisosómicas normales; de este modo, los lisosomas acumulan muchos tipos diferentes de moléculas no degradadas, lo que forma cuerpos de inclusión. Se observó que las muestras de plasma de pacientes que presentan la enfermedad contienen actividades muy altas de enzimas lisosómicas; esto sugirió que las enzimas se estaban sintetizando pero que no estaban llegando a su destino intracelular

apropiado, y en su lugar se estaban secretando. Se notó que las células en cultivo de pacientes que tenían la enfermedad captaban enzimas lisosómicas añadidas de manera exógena, obtenidas a partir de individuos normales, lo que indicó que las células contenían un receptor normal sobre su superficie para captación endocítica de enzimas lisosómicas. Además, este dato sugirió que las enzimas lisosómicas de sujetos con enfermedad de célula I, **podrían carecer de un marcador de reconocimiento**. Estudios adicionales revelaron que las enzimas lisosómicas de individuos normales portaban el marcador de reconocimiento Man 6-P antes descrito, que interactuó con una proteína intracelular específica, el receptor de Man 6-P. A continuación se encontró que las células en cultivo de pacientes con enfermedad de célula I tenían **deficiencia** de la actividad de la **GlcNAc fosfotransferasa** ubicada en *cis*-Golgi, lo que explica de qué modo sus enzimas lisosómicas no adquirieron el marcador Man 6-P. Ahora se sabe que hay **dos proteínas receptoras de Man 6-P**, una de masa molecular alta (275 kDa) y una de masa molecular baja (46 kDa). Estas proteínas son **lectinas**, **y reconocen Man 6-P**. La primera es independiente de catión y se une también al IGF-II (de ahí que se denomine el receptor de Man 6-P–IGF-II), mientras que la segunda depende de catión en algunas especies, y no se une a IGF-II. Parece ser que ambos receptores funcionan en la clasificación intracelular de enzimas lisosómicas hacia vesículas cubiertas con clatrina, lo que ocurre en el *trans*-Golgi después de síntesis de Man 6-P en el *cis*-Golgi. Estas vesículas a continuación abandonan el aparato de Golgi y se fusionan con un compartimiento prelisosómico. El **pH bajo** en este compartimiento hace que las enzimas lisosómicas se **disocien** de sus receptores y luego entren en lisosomas. Los receptores se reciclan y se vuelven a emplear. Sólo un receptor de menor tamaño funciona en la endocitosis de enzimas lisosómicas **extracelulares**, que es una vía menor para la ubicación lisosómica. No todas las células usan el receptor de Man 6-P para dirigir sus enzimas lisosómicas (p. ej., los hepatocitos emplean una vía diferente pero indefinida); más aún, no todas las enzimas lisosómicas se dirigen mediante este mecanismo. De esta manera, las investigaciones bioquímicas de la enfermedad de célula I no sólo dieron pie a la dilucidación de su fundamento, sino que también contribuyeron de modo importante al conocimiento de cómo las proteínas recién sintetizadas se dirigen hacia organelos específicos, en este caso del lisosoma. En la **figura 47-17** se resume la causa de la enfermedad de célula I. La **seudopolidistrofia de Hurler** es otra enfermedad genética estrechamente relacionada con la enfermedad de célula I. Es una **enfermedad más leve**, y los enfermos pueden sobrevivir hasta la adultez. Los estudios han revelado que la **GlcNAc fosfotransferasa** involucrada en la enfermedad de célula I tiene varios dominios, entre ellos un dominio catalítico y uno que reconoce de manera específica enzimas lisosómicas e interactúa con las mismas. Se ha propuesto que el defecto en la seudopolidistrofia de Hurler yace en este último dominio, y la retención de cierta actividad catalítica da por resultado una enfermedad más leve.

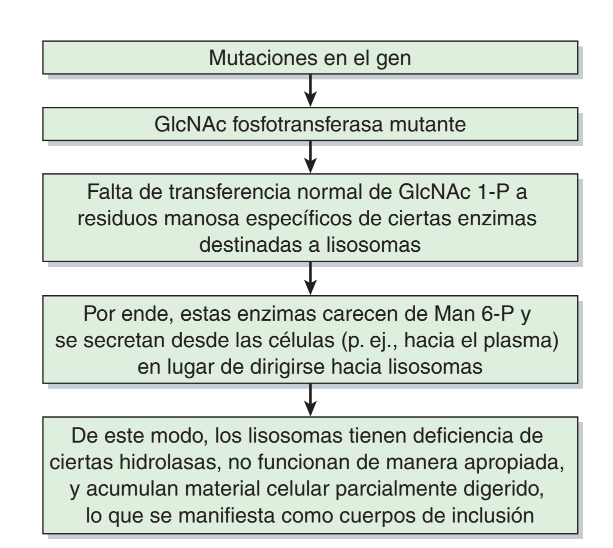


FIGURA 14–17 Resumen de la causa de la enfermedad de célula I (OMIM 252500).

Las deficiencias genéticas de hidrolasas lisosómicas de glucoproteínas suscitan enfermedades como la α-manosidosis

Las glucoproteínas, al igual que casi todas las otras biomoléculas, pasan por síntesis y degradación (es decir, recambio). La degradación de las cadenas de oligosacárido de glucoproteínas comprende una batería de hidrolasas lisosómicas, entre ellas α-neuraminidasa, β-galactosidasa, β-hexosaminidasa, α- y β-manosidasas, α-*N*-acetilgalactosaminidasa, α-fucosidasa, endo-β-*N*-acetilglucosaminidasa, y aspartilglucosaminidasa. En el pie de la figura 47-5 se indican los sitios de acción de las dos últimas enzimas. Puede haber defectos de las actividades de estas enzimas determinados por mecanismos genéticos, lo cual suele producir degradación anormal de glucoproteínas. La acumulación en los tejidos de esas glucoproteínas degradadas puede llevar a varias enfermedades. Entre las mejor reconocidas de éstas figuran la manosidosis, fucosidosis, sialidosis, aspartilglucosaminuria y enfermedad de Schindler, que se deben, respectivamente, a deficiencias de α-manosidasa, α-fucosidasa, α-neuraminidasa,

CUADRO 47-17 Principales características de algunas enfermedades[1] debidas a deficiencias de glucoproteína hidrolasas[2]

• Por lo general suscitan retraso mental u otras anormalidades neurológicas, y en algunos trastornos hay facciones toscas o visceromegalia (o ambas)
• La gravedad varía desde leve hasta rápidamente progresiva
• Herencia autosómica recesiva
• Pueden mostrar distribución étnica (p. ej., la aspartilglucosaminuria es frecuente en Finlandia)
• En algunos trastornos la microscopia revela vacuolización de células
• Presencia de productos de degradación anormales (p. ej., oligosacáridos que se acumulan debido a la deficiencia de enzima) en la orina, detectable mediante TLC; puede caracterizarse por medio de GLC-MS
• El diagnóstico definitivo se hace mediante valoración de la enzima apropiada, a menudo empleando leucocitos
• Posibilidad de diagnóstico prenatal por medio de valoraciones de enzimas apropiadas
• No hay un tratamiento definitivo

[1]α-Manosidosis, β-manosidosis, fucosidosis, sialidosis, aspartilglucosaminuria, y enfermedad de Schindler.
[2]Números de OMIM: alfa-manosidosis, 248500; β-manosidosis, 248510; fucosidosis, 230000; sialidosis, 256550; aspartilglucosaminuria, 208400; enfermedad de Schindler, 609241.

aspartilglucosaminidasa y α-*N*-acetilgalactosaminidasa. Estas enfermedades, que son relativamente raras, tienen diversas manifestaciones; algunas de sus características principales se listan en el **cuadro 47-17**. El hecho de que los individuos afectados por estos trastornos muestran signos atribuibles al **sistema nervioso central** refleja la importancia de las glucoproteínas en el desarrollo y la función normal de ese sistema.

LOS GLUCANOS DE GLUCOCONJUGADOS PARTICIPAN EN LA UNIÓN DE VIRUS, BACTERIAS Y CIERTOS PARÁSITOS A CÉLULAS DE SER HUMANO

Una característica principal de los glucanos, y una que explica muchas de sus acciones biológicas, es que se **unen** de modo específico a diversas moléculas, como proteínas y otros glucanos. Un reflejo de esto es su capacidad para unirse a ciertos virus, muchas bacterias y algunos parásitos.

El **virus de la influenza A** se une a moléculas receptoras de glucoproteína de superficie celular que contienen NeuAc por medio de una proteína llamada **hemaglutinina** (**H**). También posee una **neuraminidasa** (**N**) que tiene una participación clave en permitir la elución de progenie recién sintetizada desde células infectadas. Si se inhibe este proceso, la diseminación de los virus disminuye de manera notoria. Ahora se encuentran disponibles inhibidores de esta enzima (p. ej., zanamivir, oseltamivir) para uso en el tratamiento de sujetos con influenza. Los virus de la influenza se clasifican de acuerdo con el tipo de hemaglutinina y neuraminidasa que poseen. Hay al menos 16 tipos de hemaglutinina y nueve de neuraminidasas. Así, el **virus de la influenza aviaria** se clasifica como **H5N1**. En vista de la posibilidad de que ocurra una pandemia, hay gran interés en el modo en que este virus se fija a las células de ser humano. Se ha hallado que el virus se fija de preferencia a glucanos terminados por el

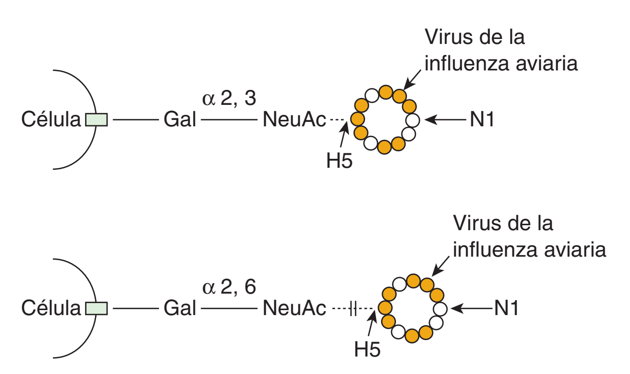


FIGURA 47–18 Representación esquemática de la unión del virus de la influenza aviaria (H5N1) a una célula epitelial respiratoria. La hemaglutinina (HA) viral media su entrada a las células al unirse a un glucano sobre la superficie celular que termina por el disacárido galactosa → α 2,3-NeuAc. No se unirá a un glucano que termina por galactosa → α 2,6-NeuAc, que es el tipo que se encuentra de manera predominante en las vías respiratorias de ser humano. Si la HA viral se alterara por mutación y adquiriera la capacidad de unirse a este último disacárido, podría incrementar de manera considerable su patogenicidad para seres humanos. (H5, hemaglutinina tipo 5; N1, neuraminidasa tipo 1.)

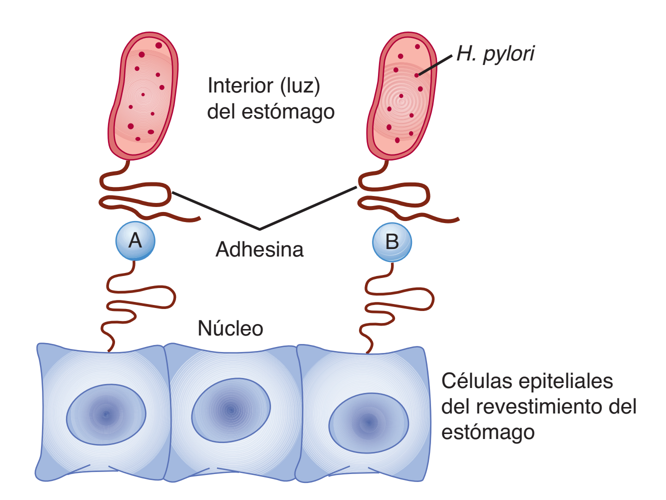


FIGURA 47–19 Fijación de *Helicobacter pylori* a células epiteliales del estómago. La adhesina, una proteína presente en la cola de *H. pylori*, interactúa con dos glucanos diferentes (estructuras que se muestran en la figura) presentes en glucoproteínas sobre la superficie de células epiteliales gástricas. Esto proporciona un sitio de fijación para la bacteria. Luego libera moléculas, como amoniaco, que contribuyen a iniciar la ulceración péptica. (A) NeuAcα2,3Galβ1,4—proteína (neuraminilgalactosa); (B) Fucα1,2Galβ1,3GlcNAc—proteína (sustancia Lewis^B).

disacárido **galactosa → α 2,3-NeuAc** (**figura 47-18**). Como quiera que sea, el disacárido predominante que termina glucanos en las células de las vías respiratorias de ser humano es **galactosa → α 2,6-NeuAc**. Si sucede un cambio en la estructura de la hemaglutinina viral (debido a mutación) que permita que se una a este último disacárido, esto podría incrementar mucho la infectividad potencial del virus, lo que posiblemente ocasionaría consecuencias muy graves.

El **virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1** (**HIV-1**), que la mayoría cree que es la causa del SIDA, se fija a las células mediante una de sus glucoproteínas de superficie (gp120) y usa otra glucoproteína de superficie (gp41) para fusionarse con la membrana de la célula huésped. Durante la infección por HIV-1 se producen **anticuerpos** contra gp120, y ha habido interés por emplear la proteína como una vacuna. Un problema importante con este método es que la estructura de gp120 puede cambiar con relativa rapidez debido a mutaciones, lo que permite al virus escapar de la actividad neutralizante de anticuerpos dirigidos contra ella.

Se cree que *Helicobacter pylori* es la principal causa de **úlceras pépticas**. Se ha mostrado en estudios que esta bacteria se une a por lo menos dos glucanos diferentes que se encuentran sobre la superficie de células epiteliales en el estómago (**figura 47-19**). Esto permite que establezca un sitio de fijación estable en el revestimiento del estómago, y se cree que la secreción subsiguiente de amoniaco y otras moléculas por la bacteria inicia la ulceración.

De manera similar, también se sabe que muchas **bacterias que dan por resultado diarrea** se fijan a las células de superficie del intestino por medio de glucanos presentes en glucoproteínas o glucolípidos.

La causa básica de la **fibrosis quística** son mutaciones en el gen que codifica para CFTR (caps. 40 y 57). Un problema importante en esta enfermedad son las infecciones pulmonares recurrentes por bacterias como *Pseudomonas aeruginosa.* En la fibrosis quística ocurre deshidratación relativa de las secreciones respiratorias por cambios de la composición de electrólitos en las vías respiratorias como resultado de mutaciones en el

CFTR. Las bacterias como *P. aeruginosa* se fijan a las cadenas de azúcar de mucinas, y encuentran en el ambiente deshidratado en los bronquiolos un sitio favorable en el cual multiplicarse.

La fijación de *Plasmodium falciparum* —uno de los tipos de plasmodios que originan **paludismo**— a células de ser humano está mediada por un GPI presente sobre la superficie del parásito.

Varios investigadores están **analizando las superficies de virus**, **bacterias**, **parásitos** y **células de ser humano** para determinar cuáles moléculas participan en la fijación. Tiene importancia definir la naturaleza exacta de las interacciones entre organismos invasores y células huésped, dado que se espera que esto lleve a la creación de fármacos y otros agentes que inhibirán de modo específico la fijación.

EL RITMO DE LA INVESTIGACIÓN EN GLUCÓMICA SE ESTÁ ACELERANDO

En el pasado, la falta de disponibilidad de técnicas idóneas para determinar las estructuras de glucanos obstaculizó la investigación sobre glucoconjugados. De cualquier manera, ahora se dispone de técnicas analíticas apropiadas (algunas de las cuales se listan en el cuadro 47-3), al igual que de nuevas y potentes técnicas genéticas (p. ej., deleciones y noqueos usando moléculas de RNAi). Es seguro que la investigación en la glucómica no sólo proporcionará muchísima información estructural sobre glucoconjugados, lo que ayudará a revelar "el código de azúcar de la vida", sino que también descubrirá muchas interacciones biológicas nuevas e importantes que dependen de azúcar, y proporcionará blancos para terapias farmacológicas y de otros tipos.

RESUMEN

- Las glucoproteínas son proteínas ampliamente distribuidas —con diversas funciones— que contienen una o más cadenas de carbohidrato enlazadas de modo covalente.
- Los componentes carbohidrato de una glucoproteína varían desde 1 hasta más de 85% de su peso, y pueden tener estructura simple o muy compleja. Ocho azúcares se encuentran principalmente en las cadenas de azúcar de glucoproteínas de ser humano: xilosa, fucosa, galactosa, glucosa, manosa, *N*-acetilgalactosamina, *N*-acetilglucosamina y ácido *N*-acetilneuramínico.
- Al menos algunas de las cadenas de oligosacárido de las glucoproteínas codifican información biológica; también son importantes para las glucoproteínas en la modulación de su solubilidad y viscosidad, en la protección de las glucoproteínas contra proteólisis, y en sus acciones biológicas.
- Las estructuras de cadenas de oligosacárido se pueden elucidar mediante cromatografía de gas-líquido, espectrometría de masa y espectrometría con NMR de alta resolución.
- Las glucosidasas hidrolizan enlaces específicos en oligosacáridos, y se emplean para explorar tanto las estructuras como las funciones de las glucoproteínas.
- Las lectinas son proteínas de unión a carbohidrato involucradas en la adherencia celular y en muchos otros procesos biológicos.
- Las principales clases de glucoproteínas son *O*-enlazadas (que involucran un OH de serina o treonina), *N*-enlazadas (que incluyen el *N* del grupo amida de la asparagina), y enlazadas a glucosilfosfatidilinositol (GPI).
- Las mucinas son una clase de glucoproteínas *O*-enlazadas que están distribuidas sobre la superficie de células epiteliales de las vías respiratorias, el tubo digestivo y las vías reproductoras.
- El retículo endoplásmico y el aparato de Golgi desempeñan una función importante en reacciones de glucosilación involucradas en la biosíntesis de glucoproteínas.
- Las cadenas de oligosacárido de glucoproteínas *O*-enlazadas se sintetizan por medio de la adición por pasos de azúcares donados por azúcares nucleótido en reacciones catalizadas por glucoproteína glucosiltransferasas específicas individuales.
- En contraste, la síntesis de glucoproteínas *N*-enlazadas involucra un dolicol-P-P-oligosacárido específico y diversas glucosiltransferasas y glucosidasas. Dependiendo de las enzimas y de las proteínas precursoras en un tejido, puede sintetizar oligosacáridos *N*-enlazados tipos complejo, híbrido, o con alto contenido de manosa.
- Las glucoproteínas están implicadas en muchos procesos biológicos. Por ejemplo, se ha encontrado que tienen funciones clave en la fecundación y la inflamación.
- Se han reconocido varias enfermedades que comprenden anormalidades de la síntesis y degradación de glucoproteínas. Las glucoproteínas también participan en muchas otras enfermedades, entre ellas influenza, SIDA, artritis reumatoide, fibrosis quística y úlcera péptica.
- Es probable que los avances en el nuevo campo de la glucómica proporcionen mucha información nueva sobre las funciones de azúcares en la salud y la enfermedad, y que indiquen también blancos para farmacoterapia y otros tipos de terapias.

REFERENCIAS

Chandrasekeran A, Srinivasan A, Raman R, et al: Glycan topology determines human adaptation of avian H5N1 virus hemagglutinin. Nat Biotechnology 2008;26:107.

Freeze HH: Congenital disorders of glycosylation: CDG-I, CDG-II, and beyond. Curr Mol Med 2007;7:389.

Kiessling LL, Splain RA: Chemical approaches to glycobiology. Annu Rev Biochem. 2010;79:619.

Kornfeld R, Kornfeld S: Assembly of asparagine-linked oligosaccharides. Annu Rev Biochem 1985;54:631.

Ohtsubo K, Marth JD: Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease. Cell 2006;126:855.

Pilobelli KT, Mahal LK: Deciphering the glycocode: the complexity and analytical challenge of glycomics. Curr Opin Chem Biol 2007;11:300.

Ramasamy R, Yan SF, Herold K, et al: Receptor for advanced glycation end products: fundamental roles in the inflammatory response: winding the way to the pathogenesis of endothelial dysfunction and atherosclerosis. Ann NY Acad Sci 2008;1126:7.

Scriver CR, Beaudet AI, Sly WS, et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease.* 8th ed. McGraw-Hill, 2001. (Varios capítulos de este texto y su versión actualizada en línea [vea Referencias en el capítulo 1] ofrece un análisis a fondo de temas como enfermedad de células I y trastornos de la degradación de proteínas.)

Taylor ME, Drickamer K: *Introduction to Glycobiology.* Oxford University Press, 2003.

Varki A, Cummings RD, Esko JD, et al: *Essentials of Glycobiology.* 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2008.

Von Itzstein M, Plebanski M, Cooke RM, Coppel RL: Hot, sweaty and sticky: the glycobiology of *Plasmodium falciparum.* Trends Parasitol 2008;24:210.

Werz DB, Seeberger PH: Carbohydrates are the next frontier in pharmaceutical research. Chemistry 2005;11:3194.

CAPÍTULO

48

La matriz extracelular

Robert K. Murray, MD, PhD y Frederick W. Keeley, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Apreciar la importancia de la matriz extracelular (ECM) y sus componentes en salud y enfermedad.
- Describir las propiedades estructurales y funcionales del colágeno y la elastina, las principales proteínas de la ECM.
- Indicar las principales características de la fibrilina, fibronectina y laminina, otras proteínas importantes de la ECM.
- Describir las propiedades y las características generales de la síntesis de glucosaminoglucanos y proteoglucanos, y de la degradación de los mismos, y sus contribuciones a la ECM.
- Describir brevemente las principales características bioquímicas del hueso y el cartílago.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Casi todas las células de mamífero están localizadas en tejidos donde están rodeadas por una **matriz extracelular** (**ECM**) compleja que suele denominarse **"tejido conjuntivo"**. La ECM contiene tres clases principales de biomoléculas: 1) las **proteínas estructurales**, por ejemplo, colágeno, elastina y fibrilina-1; 2) ciertas **proteínas especializadas**, como fibronectina y laminina, y 3) **proteoglucanos**, cuya naturaleza química se describe más adelante. Se ha encontrado que la ECM participa en muchos procesos normales y patológicos; por ejemplo, tiene funciones importantes en el desarrollo, en estados inflamatorios, y en la diseminación de células cancerosas. La afección de ciertos componentes de la ECM se ha documentado tanto en la **artritis reumatoide** como en la **osteoartritis**. Varias enfermedades (p. ej., osteogénesis imperfecta y varios tipos del síndrome de Ehlers-Danlos) se deben a alteraciones genéticas de la síntesis de colágeno. Componentes específicos de proteoglucanos (los glucosaminoglucanos; GAG) están afectados en el grupo de trastornos genéticos conocidos como las **mucopolisacaridosis**. Ocurren cambios en la ECM durante el **proceso de envejecimiento**. En este capítulo se describen las características bioquímicas básicas de las tres clases principales de biomoléculas que se encuentran en la ECM, y se ilustra su importancia biomédica. También se consideran brevemente las principales características bioquímicas de dos formas especializadas de ECM —hueso y cartílago— y de varias enfermedades que las afectan.

EL COLÁGENO TIPO I ESTÁ COMPUESTO DE UNA ESTRUCTURA DE TIPO HÉLICE Y FORMA FIBRILLAS

El **colágeno**, el principal componente de casi todos los tejidos conjuntivos, constituye alrededor de 25% de la proteína de mamíferos. Proporciona un armazón extracelular para todos los animales metazoarios, y existe en casi todos los tejidos de animales. En tejidos de ser humano se han identificado al menos 28 tipos de colágeno constituidos por más de 30 cadenas polipeptídicas distintas (cada una codificada por un gen separado). Aun cuando varios de ellos sólo están presentes en proporciones pequeñas, pueden tener funciones importantes en la determinación de las propiedades físicas de tejidos específicos. Además, varias proteínas (p. ej., el componente C1q del sistema de complemento, proteínas surfactantes pulmonares SPA y SPD) que no se clasifican como colágenos tienen dominios parecidos a colágeno en su estructura; estas proteínas a veces se llaman "colágenos no colágeno".

El **cuadro 48-1** resume la información sobre muchos de los tipos de colágenos que se encuentran en tejidos de ser humano; la nomenclatura usada para designar tipos de colágeno y sus genes se describe en el pie de cuadro.

En el **cuadro 48-2**, los tipos de colágeno listados en el cuadro 48-1 se subdividen en diversas clases con base principalmente en las estructuras que forman. En este capítulo se abordan

CUADRO 48–1 Tipos de colágeno y sus genes[1]

Tipo	Genes	Tejido
I	*COL1A1, COL1A2*	Casi todos los tejidos conjuntivos, incluso hueso
II	*COL2A1*	Cartílago, humor vítreo
III	*COL3A1*	Tejidos conjuntivos extensibles, como la piel, los pulmones y el sistema vascular
IV	*COL4A1–COL4A6*	Membranas basales
V	*COL5A1–COL5A3*	Componente menor en tejidos que contienen colágeno I
VI	*COL6A1–COL6A3*	Casi todos los tejidos conjuntivos
VII	*COL7A1*	Fibrillas de fijación
VIII	*COL8A1–COL8A2*	Endotelio, otros tejidos
IX	*COL9A1–COL9A3*	Tejidos que contienen colágeno II
X	*COL10A1*	Cartílago hipertrófico
XI	*COL11A1, COL11A2, COL2A1*	Tejidos que contienen colágeno II
XII	*COL12A1*	Tejidos que contienen colágeno I
XIII	*COL13A1*	Muchos tejidos
XIV	*COL14A1*	Tejidos que contienen colágeno I
XV	*COL15A1*	Muchos tejidos
XVI	*COL16A1*	Muchos tejidos
XVII	*COL17A1*	Hemidesmosomas cutáneos
XVIII	*COL18A1*	Muchos tejidos (p. ej., hígado, riñones)
XIX	*COL19A1*	Células de rabdomiosarcoma

Fuente: Adaptado de Prockop DJ, Kivirrikko KI: Collagens: molecular biology, diseases, and potentials for therapy. Annu Rev Biochem 1995;64:403. Copyright © 1995 por Annual Reviews, www.annualreviews.org. Reimpreso con autorización.

[1] Los tipos de colágeno se designan mediante números romanos. Las cadenas de procolágeno constituyentes, llamadas cadenas proα, se numeran empleando números arábigos, seguidos por el tipo de colágeno entre paréntesis; por ejemplo, el procolágeno tipo I se monta a partir de dos cadenas proα1(I) y una proα2(I). De este modo, es un heterotrímero, mientras que el procolágeno tipo 2 se monta a partir de tres cadenas proα1(II) y, de esta manera, es un homotrímero. Los genes que codifican para colágeno se nombran de acuerdo con el tipo de colágeno, escrito en números arábigos para el símbolo del gen, seguido por una A y el número de la cadena proα para la cual codifica. Así, los genes *COL1A1* y *COL1A2* codifican para las cadenas α1 y α2 del colágeno tipo I, respectivamente. Ahora se han reconocido por lo menos 28 tipos de colágeno.

de manera específica los **colágenos I y II** formadores de fibrillas, los principales colágenos de la piel y el hueso, y del cartílago, respectivamente. Sin embargo, se mencionarán algunos de los otros colágenos.

EL COLÁGENO ES LA PROTEÍNA MÁS ABUNDANTE EN EL MUNDO ANIMAL

Todos los tipos de colágeno tienen una **estructura de triple hélice**. En algunos colágenos, toda la molécula es de triple hélice, mientras que en otros la triple hélice puede incluir sólo una fracción de la estructura. El colágeno maduro tipo I, que contiene unos 1 000 aminoácidos, pertenece al primer tipo; en él, cada subunidad polipeptídica o cadena alfa forma una hélice de poliprolina siniestra de tres residuos por cada vuelta (**figura 48-1**). Tres de estas cadenas alfa después forman una **superhélice dies-**

CUADRO 48–2 Clasificación de los colágenos, con base principalmente en las estructuras que forman

Clase	Tipo
Formador de fibrillas	I, II, III, V, y XI
Parecido a red	IV, VIII, X
FACIT[1]	IX, XII, XIV, XVI, XIX
Filamentos con forma de rosario	VI
Fibrillas de fijación	VII
Dominio transmembrana	XIII, XVII
Otros	XV, XVIII

Fuente: Basado en Prockop DJ, Kivirrikko KI: Collagens: molecular biology, diseases, and potentials for therapy. Annu Rev Biochem 1995;64:403. Copyright © 1995 por Annual Reviews. Reimpreso con autorización.

[1] FACIT = colágenos asociados a fibrilla con triples hélices interrumpidas. Se han reconocido colágenos adicionales a los antes listados.

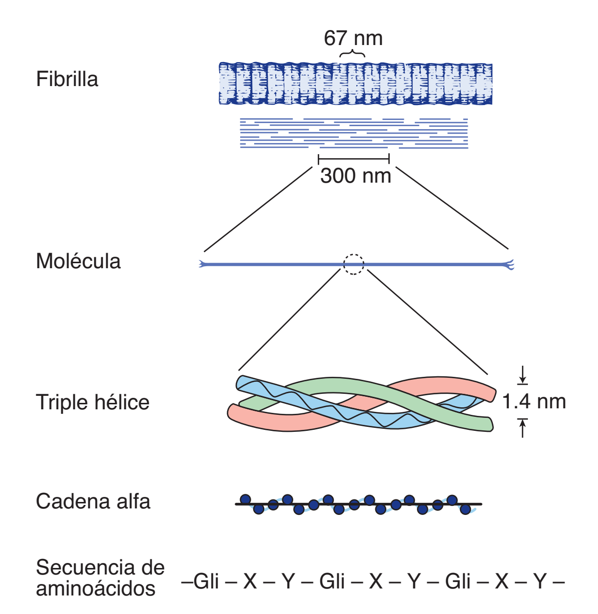


FIGURA 48–1 Características moleculares de estructuras de colágeno desde la secuencia primaria hasta la fibrilla. Cada cadena polipeptídica individual forma una hélice siniestra de tres residuos (Gli-X-Y) por cada vuelta, y todas estas cadenas luego forman una superhélice diestra. (Ligeramente modificada y reproducida, con autorización, de Eyre DR: Collagen: Molecular diversity in the body's protein scaffold. Science 1980;207:1315. Reimpreso con permiso de AAAS.)

tra, lo que forma una molécula parecida a varilla de 1.4 nm de diámetro y de alrededor de 300 nm de largo. Una característica notoria del colágeno es la presencia de residuos **glicina** en cada tercera posición de la parte de triple hélice de la cadena alfa. Esto es necesario porque la glicina es el único aminoácido lo bastante pequeño como para adaptarse en el espacio limitado disponible en el centro de la triple hélice. Esta **estructura repetitiva**, representada como $(\text{Gli-X-Y})_n$, es un requerimiento absoluto para la formación de la triple hélice. Mientras que X y Y pueden ser cualquier otro aminoácido, aproximadamente 100 de las posiciones X son prolina, y alrededor de 100 de las posiciones Y son hidroxiprolina. La prolina y la hidroxiprolina confieren **rigidez** a la molécula de colágeno. La **hidroxiprolina** se forma por medio de la hidroxilación postraduccional de residuos prolina unidos a péptido, catalizada por la enzima **prolil hidroxilasa**, cuyos cofactores son **ácido ascórbico** (vitamina C) y α-cetoglutarato. Las lisinas en la posición Y también se pueden modificar luego de la traducción hacia hidroxilisina mediante la acción de la **lisil hidroxilasa**, una enzima con cofactores similares. Algunas de estas hidroxilisinas se pueden modificar más por medio de la adición de galactosa o galactosil-glucosa mediante un **enlace *O*-glucosídico** (**véase cap. 47**), un sitio de glucosilación que es singular para el colágeno.

Los tipos de colágeno que forman fibras parecidas a varilla largas en los tejidos se montan por medio de asociación lateral de estas tres unidades de triple hélice hacia una **alineación "escalonada por cuartos"** de modo que cada una está desplazada longitudinalmente desde su vecina por un poco menos que un cuarto de su longitud (figura 48-1, parte superior). Esta disposición es la causa del aspecto en bandas de estas fibras en tejidos conjuntivos. Las fibras de colágeno se estabilizan más mediante la formación de **enlaces cruzados covalentes**, tanto dentro como entre las unidades de triple hélice. Estos enlaces cruzados se forman por medio de la acción de la **lisil oxidasa**, una enzima dependiente de cobre que desamina de manera oxidativa los grupos ε-amino de ciertos residuos lisina e hidroxilisina, lo que da aldehídos reactivos. Esos aldehídos pueden formar productos de condensación aldol con otros aldehídos derivados de lisina o hidroxilisina, o formar bases Schiff con los grupos ε-amino de lisinas o de hidroxilisinas no oxidadas. Estas reacciones, después de reordenamientos químicos adicionales, dan por resultado los enlaces cruzados covalentes estables que tienen importancia para la tensión de corte de las fibras. La histidina también puede quedar involucrada en ciertos enlaces cruzados.

Varios tipos de colágeno no forman fibrillas en los tejidos (cuadro 48-2). Se caracterizan por interrupciones de la triple hélice con tramos de proteína que carecen de secuencias de repetición Gli-X-Y. Estas secuencias no Gli-X-Y originan áreas de estructura globular entremezcladas en la estructura de triple hélice.

El **colágeno tipo IV**, el ejemplo mejor caracterizado de un colágeno con triples hélices discontinuas, es un componente de importancia de las **membranas basales**, donde forma una red parecida a malla.

El colágeno pasa por extensas modificaciones postraduccionales

El colágeno recién sintetizado pasa por extensa **modificación postraduccional** antes de hacerse parte de una fibra de colágeno extracelular madura (**cuadro 48-3**). Al igual que casi todas las proteínas secretadas, el colágeno se sintetiza en ribosomas y en una forma precursora, el **preprocolágeno**, que contiene una secuencia líder o señal que dirige la cadena polipeptídica hacia la luz del retículo endoplásmico. Conforme entra al retículo endoplásmico, esta secuencia líder se elimina de modo enzimático. La **hidroxilación** de residuos prolina y lisina, y la **glucosilación** de hidroxilisinas en la molécula de **procolágeno**, también tie-

CUADRO 48–3 Orden y localización del procesamiento del precursor de colágeno fibrilar

Intracelular
1. División de péptido señal
2. Hidroxilación de residuos prolil y algunos residuos lisil; glucosilación de algunos residuos hidroxilisil
3. Formación de enlaces S-S intracadena e intercadena en péptidos de extensión
4. Formación de triple hélice
Extracelular
1. División de propéptidos amino y carboxilo terminal
2. Montaje de fibras de colágeno en alineación escalonada por cuartos
3. Desaminación oxidativa de grupos ε-amino de residuos lisil e hidroxilisil a aldehídos
4. Formación de enlaces cruzados intracadena e intercadena por medio de bases Schiff y productos de condensación de aldol

nen lugar en este sitio. La molécula de procolágeno contiene extensiones polipeptídicas (**péptidos de extensión**) de 20 a 35 kDa en sus extremos tanto amino como carboxilo terminal, ninguno de los cuales está presente en el colágeno maduro. Ambos péptidos de extensión contienen residuos cisteína. Mientras que el propéptido amino terminal sólo forma enlaces disulfuro intracadena, los propéptidos carboxilo terminal forman enlaces disulfuro tanto intracadena como intercadena. La formación de estos enlaces disulfuro ayuda en el **registro** de las tres moléculas de colágeno para formar la triple hélice, que se constituye desde el extremo carboxilo terminal. Luego de formación de la triple hélice, no puede tener lugar hidroxilación adicional de prolina o lisina, ni glucosilación de hidroxilisinas. El **automontaje** es un principio fundamental en la biosíntesis de colágeno.

Después de **secreción** desde la célula mediante el aparato de Golgi, enzimas extracelulares denominadas **procolágeno aminoproteinasa** y **procolágeno carboxiproteinasa** eliminan los péptidos de extensión en los extremos amino y carboxilo terminal, respectivamente; estos polipéptidos pueden dividirse dentro de criptas o pliegues en la membrana celular. Una vez que los propéptidos se eliminan, las moléculas de colágeno de triple hélice, que contienen unos 1 000 aminoácidos por cada cadena, se **montan de manera espontánea** hacia fibras de colágeno, las cuales se estabilizan más por medio de la formación de **enlaces cruzados intercadena e intracadena** mediante la acción de la lisil oxidasa, como se describió.

Las mismas células que secretan colágeno también secretan **fibronectina**, una glucoproteína grande presente sobre superficies celulares, en la matriz extracelular y en la sangre (véase más adelante). La fibronectina se une a fibras de precolágeno que se están agregando, y altera la cinética de la formación de fibras en la matriz pericelular. Relacionados con la fibronectina y el procolágeno en esta matriz están los **proteoglucanos** heparán sulfato y condroitín sulfato (véase más adelante). De hecho, el **colágeno tipo IX**, un tipo de colágeno menor del cartílago, contiene una cadena de proteoglucano fija. Esas interacciones pueden servir para regular la formación de fibras de colágeno y para determinar su orientación en los tejidos.

Una vez formado, el colágeno es relativamente **estable desde el punto de vista metabólico**. Empero, su desintegración está aumentada durante la inanición y diversos estados inflamatorios. En varias enfermedades hay producción excesiva de colágeno, por ejemplo, la cirrosis hepática.

Varias enfermedades genéticas se producen por anormalidades de las síntesis de colágeno

Alrededor de 30 genes codifican para los colágenos, y su vía de biosíntesis es compleja; comprende por lo menos ocho pasos postraduccionales catalizados por enzima. Así, no sorprende que varias enfermedades (**cuadro 48-4**) se deban a **mutaciones en genes que codifican para colágeno** o **en genes que codifican para algunas de las enzimas** involucradas en estas modificaciones postraduccionales. Las enfermedades que afectan el hueso (p. ej., osteogénesis imperfecta) y cartílago (p. ej., las condrodisplasias) se comentarán más adelante en este capítulo.

El **síndrome de Ehlers-Danlos** incluye un grupo de trastornos hereditarios cuyas principales características clínicas son

CUADRO 48–4 Enfermedades causadas por mutaciones en genes que codifican para colágeno o por deficiencias en las actividades de enzimas postraduccionales involucradas en la biosíntesis de colágeno

Gen o enzima	Enfermedad[1]
COL1A1, COL1A2	Osteogénesis imperfecta, tipo 1[2] (OMIM 166200) Osteoporosis[3] (OMIM 166710) Síndrome de Ehlers-Danlos tipo VII autosómico dominante (OMIM 130060)
COL2A1	Condrodisplasias graves Osteoartritis[3] (OMIM 165720)
COL3A1	Síndrome de Ehlers-Danlos tipo IV (OMIM 130050)
COL4A3–COL4A6	Síndrome de Alport (incluso formas tanto autosómica como ligada a X) (OMIM 104200)
COL7A1	Epidermólisis ampollar, distrófica (OMIM 131750)
COL10A1	Condrodisplasia metafisaria de Schmid (OMIM 156500)
Lisil hidroxilasa	Síndrome de Ehlers-Danlos tipo VI (OMIM 225400)
Procolágeno *N*-proteinasa	Síndrome de Ehlers-Danlos tipo VII autosómico recesivo (OMIM 225410)
Lisil hidroxilasa	Enfermedad de Menkes[4] (OMIM 309400)

Fuente: Adaptado de Prockop DJ, Kivirrikko KI: Collagens: molecular biology, diseases, and potentials for therapy. Annu Rev Biochem 1995;64:403. Copyright ©1995 por Annual Reviews. Reimpreso con autorización.
[1] Se ha mostrado enlace genético con genes que codifican para colágeno para algunas otras enfermedades no listadas aquí.
[2] Se reconocen al menos cuatro tipos de osteogénesis imperfecta; casi todas las mutaciones en todos los tipos están en los genes *COL1A1* y *COL1A2*.
[3] Hoy se aplica a sólo un número relativamente pequeño de esos pacientes.
[4] Secundaria a una deficiencia de cobre (cap. 50).

hiperextensibilidad de la piel, fragilidad hística anormal y movilidad articular incrementada. El cuadro clínico es variable, y refleja la extensa heterogeneidad genética subyacente. Se han reconocido al menos 10 tipos, casi todos los cuales reflejan diversas lesiones en la síntesis de colágeno. El **tipo IV** es el más serio debido a su tendencia a rotura espontánea de arterias o del intestino, lo que refleja anormalidades del colágeno tipo III. Los pacientes con el **tipo VI**, que se debe a una deficiencia de lisil hidroxilasa, muestran notoria hipermovilidad de las articulaciones, y tendencia a rotura ocular. Una deficiencia de la procolágeno *N*-proteinasa, que causa formación de fibrillas de colágeno delgadas e irregulares, anormales, suscita el **tipo VIIC**, que se manifiesta por notoria hipermovilidad articular y piel suave.

El **síndrome de Alport** es la designación que se aplica a diversos trastornos genéticos (tanto ligados a X como autosómicos) que afectan la estructura de fibras de colágeno **tipo IV**, el principal colágeno que se encuentra en las membranas basales de los glomérulos renales (véase la exposición sobre laminina, más adelante). Se han demostrado mutaciones en varios genes que codifican para fibras de colágeno tipo IV. El signo de presentación es hematuria, y finalmente puede sobrevenir enfermedad renal en etapa terminal. La microscopia electrónica revela

anormalidades características de la estructura de la membrana basal y la lámina densa.

En la **epidermólisis ampollar**, la piel se rompe y muestra formación de vesículas como resultado de traumatismo menor. La forma distrófica se debe a mutaciones en *COL7A1,* que afectan la estructura del colágeno **tipo VII**. Este colágeno forma fibras delicadas que fijan la lámina basal a fibrillas de colágeno en la dermis. Se ha mostrado que estas fibrillas de fijación están notoriamente disminuidas en esta forma de la enfermedad, lo que quizá produce la formación de vesículas. La epidermólisis ampollar simple, otra variante, se debe a mutaciones de la queratina 5 (cap. 49).

El **escorbuto** afecta la estructura del colágeno; sin embargo, se debe a una **deficiencia de ácido ascórbico** (cap. 44) y no es una enfermedad genética. Sus principales signos son encías sangrantes, hemorragias subcutáneas, y cicatrización inadecuada de heridas. Estos signos reflejan la síntesis alterada de colágeno debida a **deficiencias de prolil y lisil hidroxilasas**, de las cuales ambas requieren ácido ascórbico como un cofactor.

En la **enfermedad de Menkes** (cap. 50) la deficiencia de cobre ocasiona entrecruzamiento defectuoso de colágeno y elastina por la enzima dependiente de cobre lisil oxidasa.

LA ELASTINA CONFIERE EXTENSIBILIDAD Y RETROCESO ELÁSTICO A LOS PULMONES, LOS VASOS SANGUÍNEOS Y LOS LIGAMENTOS

La **elastina** es una proteína del tejido conjuntivo de la cual dependen las propiedades de extensibilidad y retroceso elástico en los tejidos. Si bien no está tan difundida como el colágeno, la elastina se encuentra en grandes cantidades, especialmente en tejidos que necesitan estas propiedades físicas, por ejemplo, los pulmones, los vasos sanguíneos arteriales de gran calibre, y algunos ligamentos elásticos. También se encuentran cantidades menores de elastina en la piel, el cartílago de la oreja, y varios otros tejidos. En contraste con el colágeno, parece haber sólo un tipo genético de elastina, aunque surgen variantes por el empalme alternativo (cap. 36) del hnRNA que codifica para elastina. La elastina se sintetiza como un monómero soluble de ~70 kDa llamado **tropoelastina**. Algunas de las prolinas de la tropoelastina se hidroxilan hacia **hidroxiprolina** por medio de la prolil hidroxilasa, aun cuando no están presentes hidroxilisina ni hidroxilisina glucosilada. A diferencia del colágeno, la tropoelastina no se sintetiza en una proforma con péptidos de extensión. Más aún, la elastina no contiene secuencias Gli-X-Y repetidas, estructura de triple hélice, ni porciones carbohidrato.

Luego de secreción desde la célula, ciertos residuos lisil de la tropoelastina se desaminan de modo oxidativo hacia aldehídos mediante la **lisil oxidasa**, la misma enzima involucrada en este proceso en el colágeno. Aun así, los principales enlaces cruzados que se forman en la elastina son las **desmosinas**, que se producen por la condensación de tres de estos aldehídos derivados de lisina con una lisina no modificada para formar un enlace cruzado tetrafuncional singular para la elastina. Una vez que se entrecruza en su forma extracelular madura, la elastina es muy insoluble y **en extremo estable**, y tiene un índice de recambio muy bajo. La elastina muestra diversas conformaciones de espiral al azar que permiten que la proteína se estire y después retroceda durante el desempeño de sus funciones fisiológicas.

CUADRO 48–5 Diferencias entre colágeno y elastina

Colágeno	Elastina
1. Muchos tipos genéticos diferentes	Un tipo genético
2. Triple hélice	No hay triple hélice; conformaciones en espiral al azar que permiten el estiramiento
3. Estructura repetitiva $(\text{Gli-X-Y})_n$	No tiene estructura repetitiva $(\text{Gli-X-Y})_n$
4. Presencia de hidroxilisina	No tiene hidroxilisina
5. Contiene carbohidrato	No tiene carbohidrato
6. Enlaces cruzados aldol intramoleculares	Enlaces cruzados a desmosina intramoleculares
7. Presencia de péptidos de extensión durante la biosíntesis	No hay péptidos de extensión durante la biosíntesis

El **cuadro 48-5** resume las diferencias entre colágeno y elastina.

Se han hallado deleciones en el gen que codifica para elastina (ubicado en 7q11.23) en alrededor de 90% de los enfermos con **síndrome de Williams-Beuren** (OMIM 194050), trastorno del desarrollo que afecta el tejido conjuntivo y el sistema nervioso central. Las mutaciones, al afectar la síntesis de elastina, probablemente tienen una participación causal en la **estenosis aórtica supravalvular** que a menudo se encuentra en esta enfermedad. La fragmentación o, de manera alternativa, un decremento de la elastina, se encuentra en enfermedades como enfisema pulmonar, cutis laxa, y envejecimiento de la piel.

EL SÍNDROME DE MARFAN SE DEBE A MUTACIONES EN EL GEN QUE CODIFICA PARA LA FIBRILINA-1, UNA PROTEÍNA PRESENTE EN MICROFIBRILLAS

El **síndrome de Marfan** es una enfermedad hereditaria relativamente prevaleciente que afecta el tejido conjuntivo; se hereda como un rasgo autosómico dominante. Afecta a los **ojos** (p. ej., al causar luxación del cristalino, conocida como *ectopia lentis*), el **sistema esquelético** (la mayoría de los pacientes es alta y muestra dedos largos [aracnodactilia] e hiperextensibilidad de las articulaciones), y el **sistema cardiovascular** (p. ej., da por resultado debilidad de la media aórtica, lo que conduce a dilatación de la parte ascendente de la aorta). Abraham Lincoln quizá tuvo esta enfermedad. La mayor parte de los casos se origina por mutaciones en el gen (en el cromosoma 15) que codifica para la **fibrilina-1**; se han detectado mutaciones sin sentido en varios sujetos con síndrome de Marfan. Esto causa fibrilina anormal o depósito de cantidades menores en la ECM, o ambos trastornos.

Hay evidencia de que la citocina **TGF-β** (factor de crecimiento transformante) normalmente se une a la fibrilina-1, y si esta unión está disminuida (debido a cantidades más bajas de la fibrilina-1), esto puede llevar a un exceso de la citocina. El exceso de TGF-β puede contribuir a la patología (p. ej., en la aorta y la válvula aórtica) que se encuentra en el síndrome. Este dato puede llevar a la creación de terapias para la enfermedad empleando fármacos antagonistas del TGF-β (p. ej., losartán).

La **fibrilina-1** es una glucoproteína grande (aproximadamente 350 kDa) que es un componente estructural de microfibrillas, fibras de 10 a 12 nm que se encuentran en muchos tejidos. Los fibroblastos la secretan (luego de una división proteolítica) hacia la matriz extracelular (ECM), y queda incorporada hacia las **microfibrillas** insolubles, que parecen proporcionar un **andamio** para el depósito de elastina. La fibrilina-1 se encuentra en las fibras zonulares del **cristalino**, en el **periostio**, y se asocia con fibras de elastina en la **aorta** (y en otros sitios, lo cual tiene particular importancia para el síndrome de Marfan); estas ubicaciones explican, respectivamente, la subluxación del cristalino, la aracnodactilia y los problemas cardiovasculares que se encuentran en el síndrome. Otras proteínas (p. ej., emelina y dos proteínas relacionadas con microfibrillas) también se encuentran en microfibrillas. Parece probable que las anormalidades de ellas puedan suscitar otros trastornos del tejido conjuntivo. Un gen que codifica para otra fibrilina —la **fibrilina-2**— existe en el cromosoma 5; las mutaciones en este gen están enlazadas a la causa de la **aracnodactilia contractural congénita** (OMIM 121050), no así al síndrome de Marfan. La fibrilina-2 puede ser importante en el depósito de microfibrillas en etapas tempranas del desarrollo. En la **figura 48-2** se resume la secuencia de eventos probable que da pie a síndrome de Marfan.

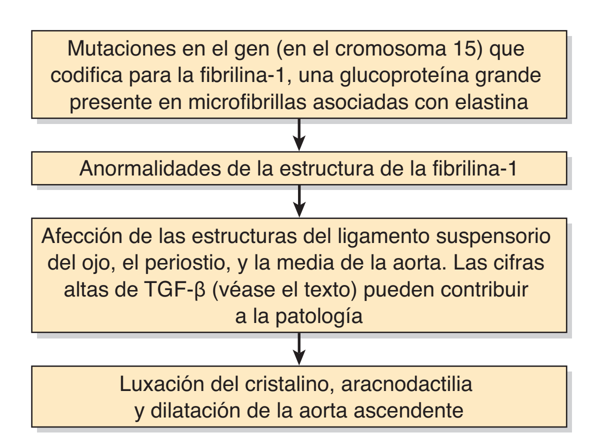


FIGURA 48–2 Secuencia de eventos probable en el origen de los principales signos del síndrome de Marfan (OMIM 154700).

LA FIBRONECTINA ES UNA GLUCOPROTEÍNA IMPORTANTE INVOLUCRADA EN LA ADHERENCIA Y MIGRACIÓN CELULARES

La **fibronectina** es una glucoproteína importante de la matriz extracelular, que también se encuentra en una forma soluble en el plasma. Consta de dos subunidades idénticas, cada una de alrededor de 230 kDa, unida por dos puentes disulfuro cerca de sus carboxilo terminales. El gen que codifica para fibronectina es muy grande; contiene unos 50 exones; el RNA producido por su transcripción está sujeto a considerable empalme alternativo, y se han detectado hasta 20 mRNA diferentes en diversos tejidos. La fibronectina contiene tres tipos de motivos de repetición (I, II y III), que están organizados hacia **dominios** funcionales (por lo menos siete); las funciones de estos dominios comprenden unión a **heparina** (véase más adelante) y fibrina, colágeno, DNA y superficies celulares (**figura 48-3**). Se ha determinado la secuencia de aminoácidos del receptor de fibronectina de fibroblastos, y la proteína es un miembro de la clase de proteínas integrina transmembrana (cap. 51). Las **integrinas** son heterodímeros que contienen diversos tipos de cadenas polipeptídicas α y β. La fibronectina contiene una secuencia Arg-Gli-Asp (RGD) que se une al receptor. La **secuencia RGD** es compartida por varias otras proteínas presentes en la ECM, que se unen a las integrinas presentes en superficies celulares. Los péptidos sintéticos que contienen la secuencia RGD inhiben la unión de fibronectina a las superficies celulares. La **figura 48-4** ilustra la interacción de colágeno, fibronectina y laminina, todas ellas proteínas importantes en la ECM, con una célula típica (p. ej., fibroblasto) presente en la matriz.

El receptor de fibronectina interactúa de modo indirecto con microfilamentos de **actina** (cap. 49) presentes en el citosol (**figura 48-5**). Participan varias proteínas, denominadas en conjunto **proteínas de fijación**; éstas incluyen talina, vinculina, una proteína de cubierta de filamentos de actina, y α-actinina. La talina interactúa con el receptor y la vinculina, mientras que estas dos últimas interactúan con la actina. La interacción de la fibronectina con su receptor proporciona una ruta por medio de la cual el **exterior de la célula puede comunicarse con el interior** y, de esta manera, afectar la conducta de la célula. Mediante la interacción con su receptor celular, la fibronectina desempeña una función importante en la **adherencia** de células a la ECM.

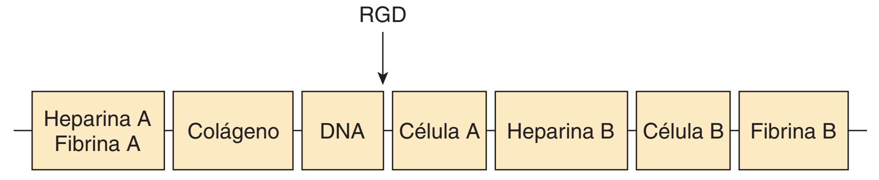


FIGURA 48–3 Representación esquemática de la fibronectina. Hay representados siete dominios funcionales de la fibronectina; se muestran dos tipos diferentes de dominio para heparina, unión a célula, y fibrina. Los dominios están compuestos de diversas combinaciones de tres motivos estructurales (I, II y III), que no se muestran en esta figura. Tampoco se muestra el hecho de que la fibronectina es un dímero unido por puentes disulfuro cerca de los carboxilo terminales de los monómeros. La flecha indica la ubicación aproximada de la secuencia RGD de la fibronectina, que interactúa con diversos receptores de integrina y fibronectina sobre superficies celulares. (Redibujada según Yamada KM: Adhesive recognition sequences. J Biol Chem 1991;266:12809.)

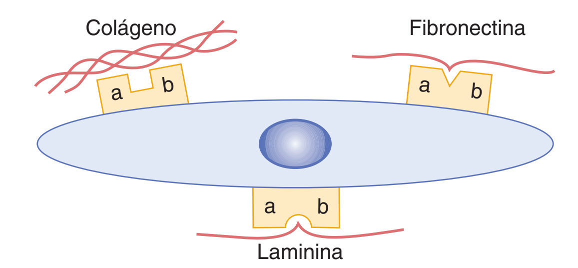


FIGURA 48–4 Representación esquemática de una célula que interactúa por medio de diferentes receptores de integrina con el colágeno, la fibronectina y la laminina presentes en la ECM. (No se indican subunidades específicas.) (Redibujada según Yamada KM: Adhesive recognition sequences. J Biol Chem 1991;266:12809.)

También participa en la **migración celular** al proporcionar un sitio de unión para células y, de este modo, ayudarlas a dirigir su paso por la ECM. La cantidad de fibronectina alrededor de muchas **células transformadas** está reducida de manera aguda, lo que explica en parte su interacción defectuosa con la ECM.

LA LAMININA ES UN COMPONENTE PROTEÍNICO IMPORTANTE DE LAS LÁMINAS BASALES DE LOS GLOMÉRULOS RENALES Y DE OTRAS LÁMINAS BASALES

Las **láminas basales** son áreas especializadas de la ECM que rodean células epiteliales y algunas otras células (p. ej., musculares). Aquí sólo se comentan las láminas que se encuentran en el **glomérulo renal**. En esa estructura, la lámina basal es aportada por dos hojas de células separadas (una endotelial y una epitelial), cada una ubicada sobre lados opuestos de la lámina; estas tres capas constituyen la **membrana glomerular**. Los componentes primarios de la lámina basal son tres proteínas —laminina, entactina y colágeno tipo IV— y la GAG **heparina** o **heparán sulfato**. Estos componentes son sintetizados por las células subyacentes.

La **laminina** (una glucoproteína de alrededor de 850 kDa y 70 nm de largo) consta de tres cadenas polipeptídicas alargadas (cadenas α, β y γ) enlazadas para formar una estructura alargada y compleja (véase la figura 49-11, **en la cual la laminina se llama merosina**). Hay diversas variantes genéticas de la laminina, cuyos detalles no se presentarán aquí. Tiene sitios de unión potenciales para el colágeno tipo IV, heparina, e integrinas sobre superficies celulares. El colágeno interactúa con la laminina (en lugar de directamente con la superficie celular), que a su vez interactúa con integrinas u otras proteínas receptoras de laminina, lo que fija la lámina a la célula. La **entactina**, también conocida como "nidógeno", es una glucoproteína que contiene una secuencia RGD; se une a la laminina, y es un importante factor de fijación celular. La lámina basal relativamente gruesa del glomérulo renal tiene una función importante en la **filtración glomerular**, al regular el paso de moléculas grandes (casi todas las proteínas plasmáticas) a través del glomérulo hacia el túbulo renal. La membrana glomerular permite que moléculas pequeñas, como la **inulina** (5.2 kDa), pasen con tanta facilidad como el

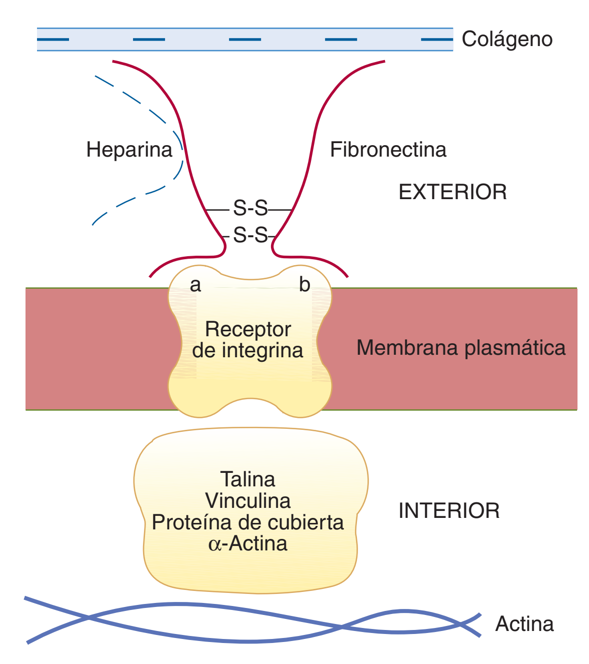


FIGURA 48–5 Representación esquemática de la fibronectina interactuando con un receptor de fibronectina integrina situado en el exterior de la membrana plasmática de una célula de la ECM, y de diversas proteínas de fijación que interactúan de manera indirecta o directa con un microfilamento de actina en el citosol. En aras de la sencillez, las proteínas de fijación se representan como un complejo.

agua. Por otro lado, únicamente una pequeña cantidad de la proteína **albúmina** (69 kDa), la principal proteína plasmática, pasa por el glomérulo normal. Esto se explica por dos grupos de hechos: 1) los **poros** en la membrana glomerular son suficientemente grandes como para permitir el paso de moléculas de hasta 8 nm. 2) La albúmina es de menor tamaño que este tamaño de poro, pero se evita que pase con facilidad por medio de las **cargas negativas** del heparán sulfato y de ciertas glucoproteínas que contienen ácido siálico presentes en la lámina. Estas cargas negativas repelen la albúmina y casi todas las proteínas plasmáticas, que tienen carga negativa al pH de la sangre. La estructura normal del glomérulo puede quedar gravemente dañada en ciertos tipos de **glomerulonefritis** (p. ej., causada por anticuerpos dirigidos contra diversos componentes de la membrana glomerular). Esto altera los poros y las cantidades y disposiciones de las macromoléculas con carga negativa mencionadas, y cantidades relativamente masivas de albúmina (y de algunas otras proteínas plasmáticas) pueden pasar hacia la orina, lo que produce **albuminuria** grave.

PROTEOGLUCANOS Y GLUCOSAMINOGLUCANOS

Los glucosaminoglucanos que se encuentran en los proteoglucanos están constituidos por disacáridos repetitivos

Los **proteoglucanos** son proteínas que contienen glucosaminoglucanos enlazados de modo covalente. Se han caracterizado al menos 30 y se les han asignado nombres como sindecano, beta-

glucano, serglicina, perlecano, agrecano, versicano, decorina, biglucano y fibromodulina. Varían en su distribución en los tejidos, la naturaleza de la proteína central, los glucosaminoglucanos fijos, y la función. Las proteínas unidas de manera covalente a los glucosaminoglucanos se llaman "**proteínas centrales**"; han resultado difíciles de aislar y caracterizar, pero el uso de tecnología de DNA recombinante está empezando a proporcionar información importante acerca de sus estructuras. La cantidad de **carbohidrato** en un proteoglucano por lo general es mucho mayor que la que se encuentra en una glucoproteína, y puede comprender hasta 95% de su peso. En las **figuras 48-6** y **48-7** se muestra la estructura general de un proteoglucano particular, el **agrecano**, el principal tipo que se encuentra en el cartílago. Es muy grande (de aproximadamente 2×10^3 kDa); su estructura general semeja la de un limpiabotellas. Contiene una cadena larga de ácido hialurónico (un tipo de GAG) al cual proteínas de enlace se fijan de **modo no covalente**. A su vez, estas últimas interactúan de manera no covalente con moléculas de proteína centrales desde las cuales se proyectan las cadenas de otros GAG (queratán sulfato y condroitín sulfato en este caso). Más adelante, cuando se comenta el cartílago, se proporcionan más detalles sobre esta macromolécula.

Hay por lo menos siete **glucosaminoglucanos** (**GAG**): ácido hialurónico, condroitín sulfato, queratán sulfatos I y II, heparina, heparán sulfato y dermatán sulfato. Un GAG es un polisacárido no ramificado constituido de disacáridos repetitivos, un componente del cual siempre es un **azúcar amino** (de ahí el nombre GAG), sea D-glucosamina o D-galactosamina. El otro componente del disacárido repetitivo (excepto en el caso del queratán sulfato) es un **ácido urónico**, sea ácido L-glucurónico (GlcUA) o su 5′-epímero, ácido L-idurónico (IdUA). Con la excepción del ácido hialurónico, todos los GAG contienen **grupos sulfato**, sea como *O*-ésteres o como *N*-sulfato (en la heparina y el heparán sulfato). El ácido hialurónico proporciona otra excepción porque no hay evidencia clara de que esté fijo de modo covalente a proteína, como lo especifica la definición de un proteoglucano antes proporcionada. Ha resultado difícil trabajar tanto con GAG como con proteoglucanos, debido en parte a su complejidad. Comoquiera que sea, son componentes de la ECM con diversas funciones biológicas importantes, y están involucrados en diversos procesos morbosos, de manera que el interés por ellos está aumentando con rapidez.

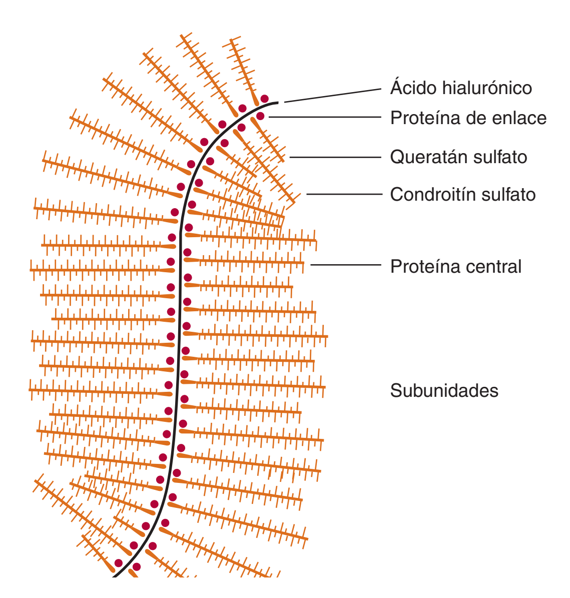


FIGURA 48–7 Representación esquemática del proteoglucano agrecano. (Reproducida, con autorización, de Lennarz WJ: *The Biochemistry of Glycoproteins and Proteoglycans.* Plenum Press, 1980. Reproducida con la amable autorización de Springer Science and Business Media.)

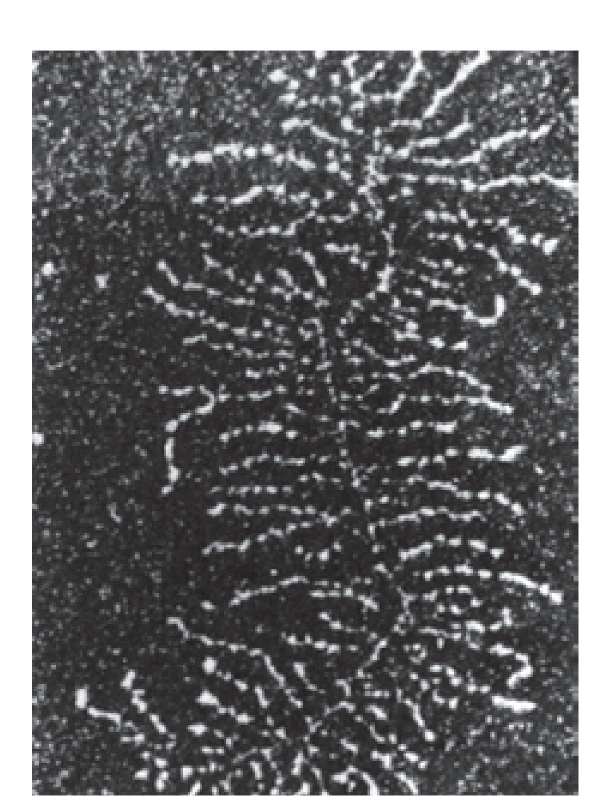


FIGURA 48–6 Micrografía electrónica de campo oscuro de un agregado de proteoglucano en el cual las subunidades del proteoglucano y el esqueleto filamentoso están en especial bien extendidos. (Reproducida, con autorización, de Rosenberg L, Hellman W, Kleinschmidt AK: Electron microscopic studies of proteoglycan aggregates from bovine articular cartilage. J Biol Chem 1975;250:1877.)

La biosíntesis de glucosaminoglucanos incluye fijación a proteínas centrales, alargamiento de cadena y terminación de cadena

Fijación a proteínas centrales

El enlace entre GAG y sus proteínas centrales regularmente es de uno de tres tipos:

1. Un **enlace *O*-glucosídico** entre **xilosa** (Xil) y **Ser**, un enlace que es singular para los proteoglucanos. Este enlace se forma mediante transferencia de un residuo Xil hacia Ser desde la UDP-xilosa. A continuación se añaden dos residuos de Gal al residuo Xil, lo que forma un **enlace trisacárido**, Gal-Gal-Xil-Ser. El crecimiento de cadena adicional del GAG ocurre en la Gal terminal.
2. Se forma un **enlace *O*-glucosídico** entre **GalNAc** (*N*-acetilgalactosamina) y **Ser** (**Tre**) (figura 47-1A), presente en

el queratán sulfato II. Este enlace se forma por medio de donación a Ser (o Tre) de un residuo GalNAc, que usa UDP-GalNAc como su donador.

3. Un **enlace *N*-glucosilamina** entre **GlcNAc** (*N*-acetilglucosamina) y el nitrógeno amino de **Asn**, como se encuentra en glucoproteínas *N*-enlazadas (figura 47-1B). Se cree que su síntesis comprende dolicol-P-Poligosacárido.

Las proteínas centrales se sintetizan en el **retículo endoplásmico**, y ahí también se forman al menos algunos de los enlaces anteriores. Casi todos estos últimos pasos en la biosíntesis de cadenas GAG y sus modificaciones subsiguientes suceden en el **aparato de Golgi**.

Alargamiento de cadena

Azúcares nucleótido apropiados y **glucosiltransferasas** muy específicas ubicadas en el aparato de Golgi se emplean para sintetizar las cadenas de oligosacárido de GAG. Aquí parece aplicarse la relación **"una enzima**, **un enlace"**, como en el caso de ciertos tipos de enlaces que se encuentran en glucoproteínas. Los sistemas enzimáticos involucrados en el alargamiento de cadena tienen la capacidad de reproducción de GAG complejos con alta fidelidad.

Terminación de cadena

Parece depender de 1) **sulfación**, de manera especial en ciertas posiciones de los azúcares, y 2) la **progresión** de la cadena de GAG en crecimiento en dirección contraria al sitio de la membrana donde ocurre catálisis.

Modificaciones adicionales

Tras la formación de la cadena de GAG, suceden **muchas modificaciones químicas**, como la introducción de grupos sulfato, hacia GalNAc y otras porciones, y la epimerización de residuos GlcUA hacia IdUA. Las enzimas que catalizan la sulfación se designan **sulfotransferasas** y usan **3′-fosfoadenosina-5′-fosfosulfato** (PAPS; sulfato activo) (figura 32-11) como el donador de sulfato. Estas enzimas localizadas en el aparato de Golgi son muy específicas, y distintas enzimas catalizan la sulfación en diferentes posiciones (p. ej., carbonos 2, 3, 4 y 6) en los azúcares aceptores. Una **epimerasa** cataliza conversiones de residuos glucuronil en iduronil.

Diversos glucosaminoglucanos muestran diferencias de estructura y tienen distribuciones características

Los siete GAG antes nombrados **difieren** uno de otro en varias de las propiedades que siguen: composición de azúcar amino, composición de ácido urónico, enlaces entre estos componentes, longitud de cadena de los disacáridos, presencia o ausencia de grupos sulfato y sus posiciones de fijación a los azúcares constituyentes, naturaleza de las proteínas centrales a las cuales están fijos, naturaleza del enlace a proteína central, su distribución en tejidos y subcelular, y sus funciones biológicas.

Ahora se comentan de manera breve las estructuras (**figura 48-8**) y distribuciones de cada uno de los GAG. En el **cuadro 48-6** se resumen las principales características de los siete GAG.

FIGURA 48–8 Resumen de las estructuras de los glucosaminoglucanos y sus fijaciones a proteínas centrales. (GlcUA, ácido D-glucurónico; IdUA, ácido L-idurónico; GlcN, D-glucosamina; GalN, D-galactosamina; Ac, acetilo; Gal, D-galactosa; Xil, D-xilosa; Ser, L-serina; Tre, L-treonina; Asn, L-asparagina; Man, D-manosa; NeuAc, ácido *N*-acetilneuramínico.) Las estructuras resumen sólo representaciones cualitativas y no reflejan, por ejemplo, la composición de ácido urónico de glucosaminoglucanos híbridos como heparina y dermatán sulfato, que contienen tanto ácido L-idurónico como D-glucurónico. Tampoco debe suponerse que los sustituyentes indicados siempre están presentes, p. ej., en tanto que casi todos los residuos ácido idurónico en la heparina portan un grupo 2′-sulfato, una proporción mucho menor de estos residuos está sulfatada en el dermatán sulfato. Se muestra la presencia de trisacáridos de enlace (Gal-Gal-Xil) en los condroitín sulfatos, heparina, y heparán y dermatán sulfatos. (Modificada y reproducida, con autorización, de Lennarz WJ: *The Biochemistry of Glycoproteins and Proteoglycans.* Plenum Press, 1980. Reproducida con la amable autorización de Springer Science and Business Media.)

CUADRO 48–6 Propiedades importantes de los glucosaminoglucanos

GAG	Azúcares	Sulfato[1]	Enlace de proteína	Ubicación
HA	GlcNAc, GlcUA	Nil	No hay evidencia firme	Líquido sinovial, humor vítreo, tejido conjuntivo laxo
CS	GalNAc, GlcUA	GalNAc	Xil-Ser; asociado con HA mediante proteínas de enlace	Cartílago, hueso, córnea
KS I	GlcNAc, Gal	GlcNAc	GlcNAc-Asn	Córnea
KS II	GlcNAc, Gal	Igual que KS I	GalNAc-Tre	Tejido conjuntivo laxo
Heparina	GlcN, IdUA	GlcN GlcN IdUA	Ser	Células cebadas
Heparán sulfato	GlcN, GlcUA	GlcN	Xil-Ser	Fibroblastos cutáneos, pared de la aorta
Dermatán sulfato	GalNAc, IdUA (GlcUA)	GalNAc IdUa	Xil-Ser	Distribución amplia

[1] El sulfato está fijo a varias posiciones de los azúcares indicados (figura 48-8).
Note que todos los GAG (salvo el queratán sulfato) tienen un ácido urónico (ácido glucurónico o idurónico).

Ácido hialurónico

Consta de una cadena no ramificada de unidades de disacárido repetitivas que contienen GlcUA y GlcNAc. El ácido hialurónico está presente en bacterias, y se encuentra ampliamente distribuido entre diversos animales y tejidos, incluso el líquido sinovial, el cuerpo vítreo, cartílago, y tejidos conjuntivos laxos.

Condroitín sulfatos (condroitín 4-sulfato y condroitín 6-sulfato)

Los proteoglucanos enlazados a **condroitín sulfato** por el enlace Xil-Ser *O*-glucosídico son componentes notorios del **cartílago** (véase más adelante). El disacárido repetitivo es similar al que se encuentra en el ácido hialurónico; y contiene GlcUA pero con **GalNAc** remplazando a GlcNAc. El GalNAc se sustituye con **sulfato** en su posición 4′ o 6′; aproximadamente un sulfato está presente por cada unidad de disacárido.

Queratán sulfatos I y II

Los queratán sulfatos constan de unidades de disacárido **Gal-GlcNAc** repetitivas que contienen **sulfato** fijo a la posición 6′ de GlcNAc o en ocasiones de Gal. El tipo I es abundante en la **córnea**, y el tipo II se encuentra junto con el condroitín sulfato fijo al ácido hialurónico en el **tejido conjuntivo laxo**. Los tipos I y II tienen diferentes fijaciones a proteína (figura 48-8).

Heparina

El disacárido repetitivo contiene **glucosamina** (GlcN) y uno u otro de los dos ácidos urónicos (**figura 48-9**). Casi todos los aminoácidos de los residuos GlcN están ***N*-sulfatados**, pero algunos están acetilados. La GlcN también porta un sulfato fijo al carbono 6.

Alrededor de 90% de los residuos ácido urónico es **IdUA**. En un inicio, todos los ácidos urónicos son GlcUA, pero una 5′-epimerasa convierte alrededor de 90% de los residuos GlcUA en IdUA después de que se forma la cadena de polisacárido. La molécula de proteína del proteoglucano heparina es singular; consta de modo exclusivo de residuos serina y glicina. Cerca de dos terceras partes de los residuos serina contienen cadenas de GAG, por lo general de 5 a 15 kDa, pero a veces de tamaño considerablemente mayor. La heparina se encuentra en los gránulos de **células cebadas** y en el hígado, los pulmones y la piel.

$CH_2OSO_3^-$ CO_2^- OH $HNSO_3^-$ OSO_3^- HNAc
GlcN IdUA GlcN IdUA GlcN GlcUA GlcNAc

FIGURA 48–9 Estructura de la heparina. La sección del polímero ilustra características estructurales típicas de la heparina; de cualquier modo, la secuencia de las unidades de disacárido repetitivas sustituidas de diversas maneras se ha seleccionado de modo arbitrario. Además, también puede haber residuos glucosamina no *O*-sulfatados o 3-*O*-sulfatados. (Modificada, redibujada y reproducida, con autorización, de Lindahl U *et al*.: Structure and biosynthesis of heparin-like polysaccharides. Fed Proc 1977;36:19.)

Heparán sulfato

Esta molécula se encuentra en muchas **superficies celulares** como un proteoglucano, y es extracelular. Contiene **GlcN** con menos *N*-sulfatos que la heparina y, al contrario de esta última, su ácido urónico predominante es **GlcUA**.

Dermatán sulfato

Esta sustancia se encuentra ampliamente distribuida en tejidos de animales. Su estructura es similar a la del condroitín sulfato, salvo porque en lugar de un GlcUA en el enlace β-1,3 a GalNAc, contiene un **IdUA** en un enlace α-1,3 a **GalNAc**. La formación del IdUA ocurre, al igual que en la heparina y el heparán sulfato, mediante 5′-epimerización de GlcUA. Dado que esto es regulado por el grado de sulfación, y puesto que la sulfación es incompleta, el dermatán sulfato contiene disacáridos **tanto** IdUA-GalNAc **como** GlcUA-GalNAc.

Las deficiencias de enzimas que degradan glucosaminoglucanos ocasionan mucopolisacaridosis

Tanto las **exoglucosidasas** como las **endoglucosidasas** degradan GAG. Al igual que casi todas las otras biomoléculas, los GAG están sujetos a **recambio**; se sintetizan y se degradan. En tejidos de adulto, los GAG por lo general muestran recambio relativamente **lento**; su vida media es de días a semanas.

El entendimiento de las vías de degradación para el GAG, como en el caso de las glucoproteínas (cap. 47) y de los glucoesfingolípidos (cap. 24), se ha auxiliado mucho por la elucidación de las deficiencias enzimáticas específicas que suceden en determinados **errores congénitos del metabolismo**. Cuando están involucrados GAG, estos errores congénitos se denominan **mucopolisacaridosis** (**cuadro 48-7**).

Los GAG se **degradan** por medio de una batería de **hidrolasas lisosómicas**, las cuales incluyen ciertas **endoglucosidasas**,

CUADRO 48–7 Defectos bioquímicos y pruebas diagnósticas en las mucopolisacaridosis (MPS) y mucolipidosis (ML)

Nombre	Designación alternativa[1,2]	Defecto enzimático	Metabolitos urinarios
Mucopolisacaridosis			
Hurler (OMIM 607014), Scheie (OMIM 607016), Hurler-Scheie (OMIM 607015)	MPS I	α-L-Iduronidasa	Dermatán sulfato, heparán sulfato
Hunter (OMIM 309900)	MPS II	Iduronato sulfatasa	Dermatán sulfato, heparán sulfato
Sanfilippo A (OMIM 252900)	MPS IIIA	Heparán sulfato *N*-sulfatasa (sulfamidasa)	Heparán sulfato
Sanfilippo B (OMIM 252920)	MPS IIIB	α-*N*-Acetilglucosaminidasa	Heparán sulfato
Sanfilippo C (OMIM 252930)	MPS IIIC	α-Glucosaminida *N*-acetiltransferasa	Heparán sulfato
Sanfilippo D (OMIM 252940)	MPS IIID	*N*-Acetilglucosamina 6-sulfatasa	Heparán sulfato
Morquio A (OMIM 253000)	MPS IVA	Galactosamina 6-sulfatasa	Queratán sulfato, condroitín 6-sulfato
Morquio B (OMIM 253010)	MPS IVB	β-Galactosidasa	Queratán sulfato
Maroteaux-Lamy (OMIM 253200)	MPS VI	*N*-Acetilgalactosamina 4-sulfatasa (arilsulfatasa B)	Dermatán sulfato
Sly (OMIM 253220)	MPS VII	β-Glucuronidasa	Dermatán sulfato, heparán sulfato, condroitín 4-sulfato, condroitín 6-sulfato
Mucolipidosis			
Sialidosis (OMIM 256550)	ML I	Sialidasa (neuraminidasa)	Fragmentos de glucoproteína
Enfermedad de célula I (OMIM 252500)	ML II	*N*-acetilglucosamina-1-fosfotransferasa (de este modo, las hidrolasas ácidas carecen de residuos fosfomanosil)	Fragmentos de glucoproteína
Seudopolidistrofia de Hurler (OMIM 252600)	ML III	Igual que para ML II, pero la deficiencia es incompleta	Fragmentos de glucoproteína

Fuente: Modificado y reproducido, con autorización, de DiNatale P, Neufeld EF: The biochemical diagnosis of mucopolysaccharidoses, mucolipidoses and related disorders. En: *Perspectives in Inherited Metabolic Diseases,* vol 2. Barr B *et al*. (editores). Editiones Ermes (Milán), 1979.

[1] Pueden usarse fibroblastos, leucocitos, tejidos, células de líquido amniótico, o suero, para la valoración de muchas de las enzimas anteriores. Los sujetos que tienen estos trastornos muestran diversos datos clínicos que pueden incluir opacidad corneal, retraso mental, rigidez de articulaciones, anormalidades cardiacas, hepatosplenomegalia y estatura corta, dependiendo de la enfermedad específica y de su gravedad.

[2] Ya no se emplea el término MPS V. No se ha confirmado la existencia de MPS VIII (deficiencia sospechada de glucosamina 6-sulfatasa: OMIM 253230). Se ha informado por lo menos un caso de deficiencia de hialuronidasa (MPS IX; OMIM 601492).

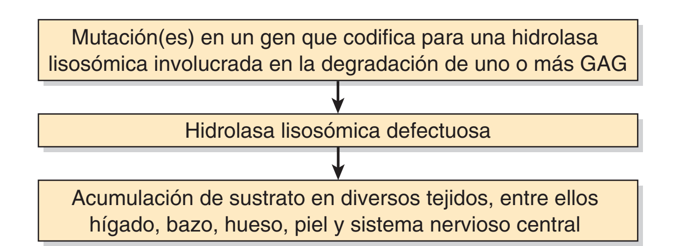


FIGURA 48–10 Esquema simplificado de la causa de una mucopolisacaridosis, como el síndrome de Hurler (OMIM 607014), en el cual la enzima afectada es α-L-iduronidasa. La acumulación notoria de los GAG en los tejidos que se mencionan en la figura podría suscitar hepatomegalia, esplenomegalia, alteraciones del crecimiento, facies tosca y retraso mental, respectivamente.

CUADRO 48–9 Algunas pruebas de laboratorio usadas en el diagnóstico de una mucopolisacaridosis

Examen general de orina para buscar la presencia de cantidades aumentadas de GAG.
Valoraciones de enzimas sospechadas en leucocitos, fibroblastos o posiblemente suero.
Biopsia de tejido con análisis subsiguiente de GAG por medio de electroforesis.
Uso de pruebas de gen específicas.
Ahora se puede llevar a cabo diagnóstico prenatal en al menos ciertos casos empleando células de líquido amniótico o biopsia de vellosidades coriónicas.

diversas **exoglucosidasas** y **sulfatasas**, que por lo general actúan en secuencia para degradar los diversos GAG. Varias de ellas se indican en el cuadro 48-7.

Las **mucopolisacaridosis** comparten un mecanismo causal (**figura 48-10**); por lo regular se heredan de una manera **autosómica recesiva**; los **síndromes de Hurler** y de **Hunter** tal vez son los más ampliamente estudiados. Ninguno es frecuente. El **cuadro 48-8** resume las **características generales** de estas enfermedades y en el **cuadro 48-9**, las **pruebas de laboratorio** útiles en su diagnóstico. En algunos casos, se obtiene un **antecedente familiar** de una mucopolisacaridosis.

El término **“mucolipidosis”** se introdujo para denotar enfermedades que combinaron características comunes tanto a mucopolisacaridosis como a esfingolipidosis (cap. 24). En el cuadro 48-7 se listan tres mucolipidosis. En la **sialidosis** (mucolipidosis I, ML-I), diversos oligosacáridos derivados de glucoproteínas y ciertos gangliósidos pueden acumularse en los tejidos. En el capítulo 47 se describen la **enfermedad de célula I** (ML-II) y la **seudopolidistrofia de Hurler** (ML-III). El término “mucolipidosis” se retiene porque aún está en uso clínico difundido, pero es inapropiado para estas dos últimas enfermedades dado que su mecanismo causal comprende **ubicación inadecuada** de ciertas enzimas lisosómicas. En el capítulo 47 también se describen los defectos genéticos del catabolismo de las cadenas de oligosacárido de glucoproteínas (p. ej., manosidosis, fucosidosis). Casi todos estos defectos se caracterizan por excreción incrementada de diversos fragmentos de glucoproteínas en la orina, que se acumulan debido al bloqueo metabólico, como en el caso de las mucolipidosis.

CUADRO 48–8 Resumen de las principales características de las mucopolisacaridosis

Muestran una evolución progresiva crónica.
Afectan diversos sistemas (o sea, son trastornos multisistémicos).
Muchos pacientes muestran organomegalia (p. ej., puede haber hepatomegalia y esplenomegalia).
Los enfermos suelen tener disostosis múltiple (caracterizada por anormalidades graves del desarrollo del cartílago y hueso, y retraso mental).
Los pacientes a menudo muestran facies (aspecto facial) anormal.
Otros signos que en ocasiones se encuentran son anormalidades de la audición, la visión, el sistema cardiovascular y el desarrollo mental.

La **hialuronidasa** es una enzima importante involucrada en el catabolismo tanto del ácido hialurónico como del condroitín sulfato. Es una endoglucosidasa ampliamente distribuida que divide enlaces hexosaminídicos. A partir del ácido hialurónico, la enzima generará un tetrasacárido, con la estructura $(GlcUA\beta\text{-}1,3\text{-}GlcNAc\text{-}\beta\text{-}1,4)_2$, que se puede degradar más mediante una β-glucuronidasa y β-*N*-acetilhexosaminidasa. Sorprende que al parecer sólo se ha reportado un caso de una deficiencia genética manifiesta de esta enzima (OMIM 601492).

Los proteoglucanos tienen muchas funciones

Como se indicó, los **proteoglucanos** son moléculas notoriamente complejas, y se encuentran en **cada tejido** del organismo, principalmente en la ECM o “sustancia fundamental”. Ahí, se asocian entre sí y con los otros componentes estructurales principales de la matriz, colágeno y elastina, de modos bastante específicos. Algunos proteoglucanos se unen a colágeno y otros a elastina. Estas interacciones tienen importancia en la determinación de la organización estructural de la matriz. Algunos proteoglucanos (p. ej., decorina) también pueden **unirse a factores de crecimiento** como TGF-β, y modular sus efectos sobre las células. Además, algunos de ellos interactúan con ciertas **proteínas adhesivas** como fibronectina y laminina (véase antes), que también se encuentran en la matriz. Los GAG presentes en los proteoglucanos son **polianiones** y, en consecuencia, se unen a policationes y cationes como Na^+ y K^+. Esta última capacidad atrae agua por medio de presión osmótica hacia la matriz extracelular, y contribuye a su turgencia. Los GAG también forman **gel** a concentraciones relativamente bajas. Debido a la naturaleza extendida larga de las cadenas de polisacárido de GAG, y su capacidad para formar gel, los proteoglucanos pueden actuar como **tamiz**, al restringir el paso de macromoléculas grandes hacia la ECM pero permitir difusión relativamente libre de moléculas pequeñas. De nuevo, debido a sus estructuras extendidas y los enormes agregados macromoleculares que suelen formar, ocupan un **volumen grande** de la matriz en comparación con las proteínas.

Algunas funciones de GAG y proteoglucanos específicos

La concentración del **ácido hialurónico** es particularmente alta en tejidos embrionarios, y se cree que tiene importancia en permitir la **migración celular** durante la morfogénesis y la reparación de heridas. Su capacidad para atraer agua hacia la matriz extracelular y, así, "aflojarla" quizá tenga importancia a este respecto. Las concentraciones altas de ácido hialurónico y condroitín sulfatos presentes en el **cartílago** contribuyen a su compresibilidad (véase más adelante).

Los **condroitín sulfatos** están localizados en sitios de calcificación en el **hueso** endocondral y se encuentran también en el **cartílago**. Asimismo, están situados dentro de ciertas **neuronas**, y tal vez proporcionen una estructura endoesquelética, lo que ayuda a mantener su forma.

Tanto el **queratán sulfato I** como el **dermatán sulfato** están presentes en la **córnea**. Yacen entre fibrillas de colágeno, y desempeñan una función crucial en la transparencia de la córnea. Los cambios de la composición de proteoglucano que se encuentran en cicatrices corneales desaparecen una vez que sana la córnea. La presencia de dermatán sulfato en la **esclerótica** quizá también tenga una participación en el mantenimiento de la forma general del ojo. El queratán sulfato I también se encuentra en el **cartílago**.

La **heparina** es un importante **anticoagulante**. Se une con los factores IX y XI, pero su interacción más importante es con la **antitrombina plasmática** (cap. 51). La heparina también puede unirse de manera específica a la **lipoproteína lipasa** presente en las paredes de los capilares, lo que se traduce en una liberación de esta enzima hacia la circulación.

Ciertos proteoglucanos (p. ej., **heparán sulfato**) se relacionan con la membrana plasmática de las células; sus proteínas centrales en realidad abarcan esa membrana. En ella pueden actuar como **receptores** y participar en la mediación del **crecimiento celular** y la **comunicación entre una célula y otra**. La fijación de células a su sustrato en cultivo está mediada al menos en parte por el heparán sulfato. Este proteoglucano también se encuentra en la **membrana basal de los riñones** junto con el colágeno tipo IV y la laminina (véase antes), donde desempeña una importante función en la determinación de la selectividad de carga de la filtración glomerular.

Los proteoglucanos también se encuentran en **sitios intracelulares**, como el núcleo; no se ha dilucidado su función en este organelo. Están presentes en algunos gránulos de almacenamiento o secretorios, como los gránulos cromafines de la médula suprarrenal. Se ha postulado que participan en liberación del contenido de esos gránulos. El **cuadro 48-10** resume las diversas funciones de los GAG.

Vínculos con enfermedades importantes y con el envejecimiento

El ácido hialurónico puede tener importancia en permitir que las **células tumorales migren** a través de la ECM. Dichas células pueden inducir a los fibroblastos para que sinteticen cantidades muy aumentadas de este GAG, lo que tal vez facilita su propia diseminación. Algunas células tumorales tienen menos heparán sulfato en su superficie, y esto puede participar en la **falta de adhesividad** que muestran estas células.

La íntima de la **pared arterial** contiene proteoglucanos ácido hialurónico y condroitín sulfato, dermatán sulfato, y heparán sulfato. De estos proteoglucanos, el dermatán sulfato se une a lipoproteínas de baja densidad plasmáticas. Más aún, el dermatán sulfato parece ser el principal GAG sintetizado por las células de músculo liso arterial. Puesto que son estas células las que proliferan en **lesiones ateroscleróticas** en arterias, el dermatán sulfato quizá tenga una función importante en la formación de la placa aterosclerótica.

En diversos tipos de **artritis**, los proteoglucanos pueden actuar como **autoantígenos**, lo que contribuye a las características patológicas de estas enfermedades. La cantidad de condroitín sulfato en el cartílago disminuye con la edad, mientras que las cantidades de queratán sulfato y ácido hialurónico se incrementan. Estos cambios pueden contribuir a la aparición de **osteoartritis**, al igual que la actividad aumentada de la enzima agrecanasa, que actúa para degradar el agrecano. Con el **envejecimiento** también se observan cambios de las cantidades de ciertos GAG en la piel y ayudan a explicar los cambios característicos que se notan en este órgano en ancianos.

Una interesante nueva fase de la investigación sobre proteoglucanos se está abriendo con los datos de que las mutaciones que afectan proteoglucanos individuales o las enzimas necesarias para su síntesis alteran la regulación de **vías emisoras de señal específicas** en *Drosophila* y *Caenorhabditis elegans*, lo que afecta el **desarrollo**; parece probable que existen efectos similares en ratones y seres humanos.

CUADRO 48–10 Algunas funciones de los glucosaminoglucanos y los proteoglucanos

• Actúan como componentes estructurales de la ECM
• Tienen interacciones específicas con colágeno, elastina, fibronectina, laminina y otras proteínas como factores de crecimiento
• Como polianiones, se unen a policationes y cationes
• Contribuyen a la turgencia típica de diversos tejidos
• Actúan como tamices en la ECM
• Facilitan la migración celular (HA)
• Participan en la compresibilidad del cartílago en la carga de peso (HA, CS)
• Participan en la transparencia de la córnea (KS I y DS)
• Tienen una función estructural en la esclerótica (DS)
• Actúan como anticoagulante (heparina)
• Son componentes de las membranas plasmáticas, donde pueden actuar como receptores y participar en la adherencia celular y en interacciones entre una célula y otra (p. ej., HS)
• Determinan la selectividad de carga del glomérulo renal (HS)
• Son componentes de vesículas sinápticas y de otras vesículas (p. ej., HS)

Abreviaturas: ECM, matriz extracelular; HA, ácido hialurónico; CS, condroitín sulfato; KS I, queratán sulfato I; DS, dermatán sulfato; HS, heparán sulfato.

EL HUESO ES UN TEJIDO CONJUNTIVO MINERALIZADO

El hueso contiene material tanto **orgánico** como **inorgánico**. El material **orgánico** es principalmente **proteína**. En el **cuadro**

CUADRO 48–11 Las principales proteínas que se encuentran en el hueso[1]

Proteínas	Comentarios
Colágenos	
Colágeno tipo I	Alrededor de 90% de la proteína ósea total. Compuesto de dos cadenas α1(I) y una cadena α2(I).
Colágeno tipo V	Componente menor.
Proteínas no colágeno	
Proteínas plasmáticas	Mezcla de diversas proteínas plasmáticas.
Proteoglucanos[2] CS-PG I (biglucano)	Contiene dos cadenas de GAG; se encuentra en otros tejidos.
CS-PG II (decorina)	Contiene una cadena de GAG; se encuentra en otros tejidos.
CS-PG III	Específica para hueso.
Proteína SPARC[3] ósea (osteonectina)	No específica para hueso.
Osteocalcina (proteína Gla ósea)	Contiene residuos γ-carboxiglutamato que se unen a la hidroxiapatita. Específica para hueso.
Osteopontina	No específica para hueso. Glucosilada y fosforilada.
Sialoproteína ósea	Específica para hueso. Muy glucosilada, y sulfatada en la tirosina.
Proteínas morfogenéticas óseas (BMP)	Una familia (ocho o más) de proteínas secretadas con diversas acciones sobre el hueso; muchas inducen crecimiento de hueso ectópico.
Osteoprotegerina	Inhibe la osteoclastogénesis

[1] Se han atribuido diversas funciones a las proteínas no colágeno, entre ellas algunas en la mineralización; no obstante, casi todas aún son especulativas. Se considera poco probable que las proteínas no colágeno que no son específicas para hueso tengan una participación clave en la mineralización. Varias otras proteínas también están presentes en el hueso, entre ellas una proteína de matriz ácida con alto contenido de tirosina (TRAMP), algunos factores de crecimiento (p. ej., TGFβ) y enzimas involucradas en la síntesis de colágeno (p. ej., lisil oxidasa).
[2] CS-PG, condroitín sulfato-proteoglucano; éstas son similares a los PG dermatán sulfato (DS-PG) del cartílago (cuadro 48-13).
[3] SPARC, proteína secretada ácida y con alto contenido de cisteína.

48-11 se listan las principales proteínas del hueso; el **colágeno tipo I** es la principal proteína; incluye 90 a 95% del material orgánico. También se encuentra colágeno tipo V en pequeñas cantidades, al igual que varias proteínas no colágeno, algunas de las cuales son relativamente específicas para el hueso. El componente **inorgánico** o mineral es principalmente **hidroxiapatita** cristalina —$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$— junto con sodio, magnesio, carbonato y fluoruro; alrededor de 99% del calcio corporal está en el hueso (cap. 44). La hidroxiapatita confiere al hueso la fuerza y resistencia requeridas por sus funciones fisiológicas.

El hueso es una **estructura dinámica** que pasa por ciclos continuos de remodelado, que constan de resorción seguida por depósito de nuevo tejido óseo. Este remodelado permite que el hueso se adapte a señales tanto físicas (p. ej., incrementos de la carga de peso) como hormonales.

Los principales tipos de células involucrados en la resorción y el depósito de hueso son los **osteoclastos** y los **osteoblastos** (**figura 48-11**). Los primeros se relacionan con resorción, y los segundos con depósito de hueso. Los osteocitos son descendientes de los osteoblastos; también parecen participar en el mantenimiento de la matriz ósea, pero no se comentarán más aquí.

Los **osteoclastos** son células multinucleadas derivadas de células madre hematopoyéticas pluripotenciales. Los osteoclastos poseen un dominio de membrana apical, que muestra un borde rugoso que es clave en la resorción ósea (**figura 48-12**). Una **ATPasa** translocadora de protón expulsa protones a través del borde rugoso hacia el área de resorción, que es el microambiente de pH bajo que se muestra en la figura. Esto produce decremento del pH local a 4.0 o menos, lo que aumenta la solubilidad de la hidroxiapatita y permite que ocurra desmineralización. Se liberan proteasas ácidas lisosómicas que digieren las ahora accesibles proteínas de matriz. Los **osteoblastos** —células mononucleares derivadas de precursores mesenquimatosos pluripotenciales— sintetizan casi todas las proteínas que se encuentran en el hueso (cuadro 48-11), así como diversos factores de crecimiento y citocinas. Se encargan del depósito de nueva matriz ósea (osteoide) y su mineralización subsiguiente. Los osteoblastos **controlan la mineralización** al regular el paso de

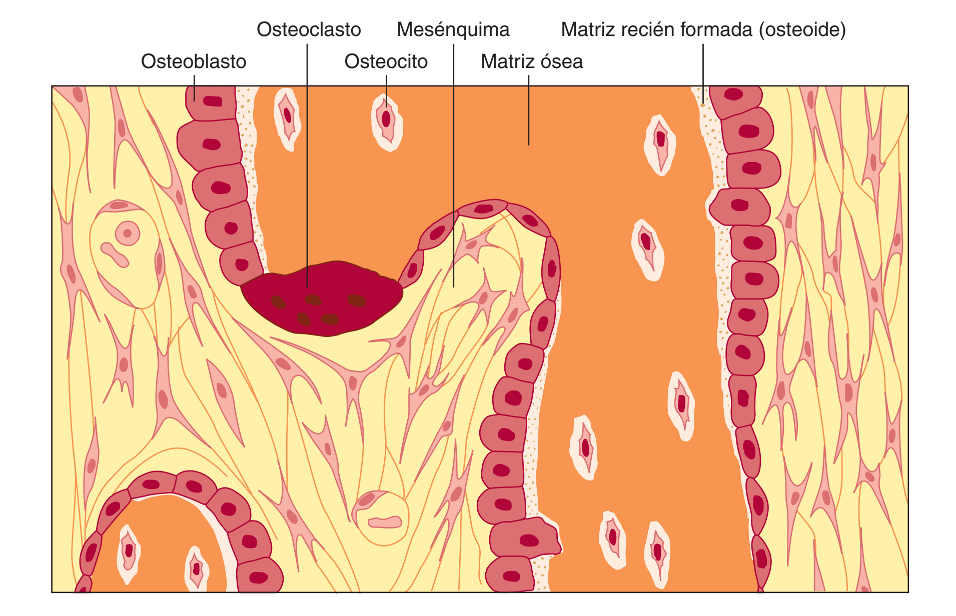


FIGURA 48–11 Ilustración esquemática de las principales células presentes en el hueso membranoso. Los osteoblastos (de color más claro) están sintetizando colágeno tipo I, que forma una matriz que atrapa células. A medida que ocurre esto, los osteoblastos se diferencian de manera gradual para convertirse en osteocitos. (Reproducida, con autorización, de Junqueira LC, Carneiro J: *Basic Histology: Text & Atlas,* 10th ed. McGraw-Hill, 2003.)

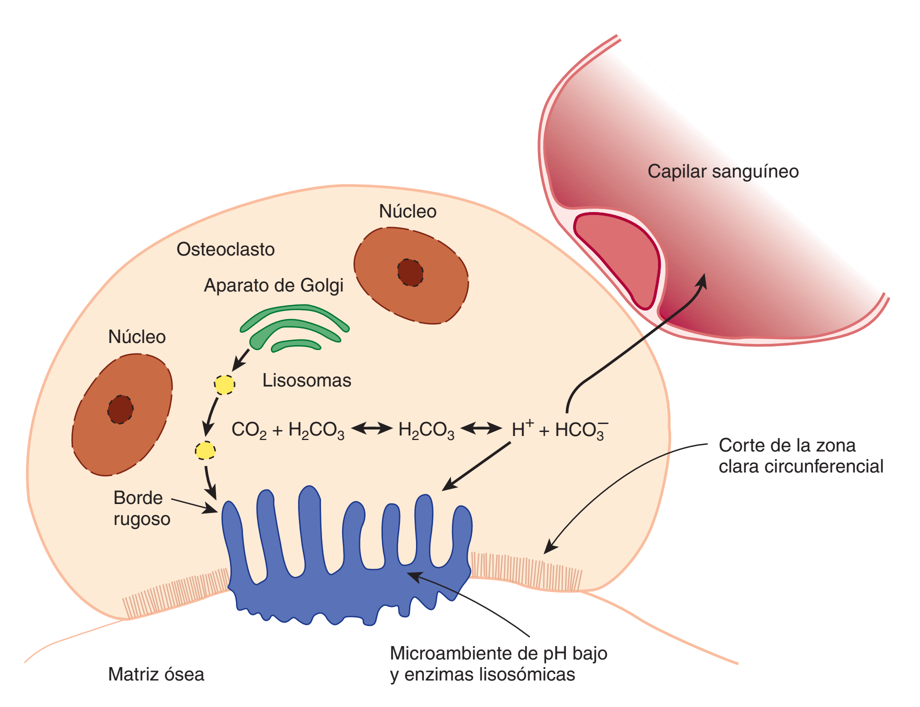


FIGURA 48–12 Ilustración esquemática de algunos aspectos de la función del osteoclasto en la resorción ósea. Enzimas lisosómicas y iones de hidrógeno se liberan hacia el microambiente confinado creado por la unión entre matriz ósea y la zona clara periférica del osteoclasto. La acidificación de este espacio confinado facilita la disolución del fosfato de calcio desde el hueso, y es el pH óptimo para la actividad de hidrolasas lisosómicas. La matriz ósea se elimina así, y los productos de resorción ósea son captados hacia el citoplasma del osteoclasto, probablemente se digieren más, y se transfieren hacia capilares. La ecuación química que se muestra en la figura se refiere a la acción de la anhidrasa carbónica II, descrita en el texto. (Reproducida, con autorización, de Junqueira LC, Carneiro J: *Basic Histology: Text & Atlas,* 10th ed. McGraw-Hill, 2003.)

iones de calcio y fosfato a través de sus membranas de superficie. Estas últimas contienen **fosfatasa alcalina**, que se emplea para generar iones de fosfato a partir de fosfatos orgánicos. Los mecanismos involucrados en la mineralización no se entienden por completo, pero varios factores han quedado implicados. La fosfatasa alcalina contribuye a la mineralización, pero no es suficiente por sí misma. Se han descrito vesículas pequeñas (vesículas de matriz) que contienen calcio y fosfato en sitios de mineralización, aunque no está clara su función. El **colágeno tipo I** parece ser necesario; la mineralización es evidente en las brechas entre moléculas sucesivas. El interés reciente se ha enfocado en las **fosfoproteínas ácidas**, como la sialoproteína ósea, que actúan en sitios de nucleación. Estas proteínas contienen motivos (p. ej., tramos poli-Asp y poli-Glu) que se unen al calcio y pueden proporcionar un andamio para la mineralización. Algunas macromoléculas, como ciertos proteoglucanos y glucoproteínas, también actúan como **inhibidores** de la nucleación.

Se estima que alrededor de 4% del hueso compacto se **renueva cada año** en el adulto sano típico, mientras que aproximadamente 20% del hueso trabecular es remplazado.

Muchos factores participan en la **regulación del metabolismo óseo**; aquí únicamente se mencionarán algunos (véase el caso núm. 15 sobre osteoporosis, cap. 57). Algunos **estimulan a los osteoblastos** (p. ej., hormona paratiroidea y 1,25-dihidroxicolecalciferol), y otros los **inhiben** (p. ej., corticosteroides). La hormona paratiroidea y el 1,25-dihidroxicolecalciferol también estimulan a los osteoclastos, mientras que la calcitonina y los estrógenos los inhiben.

EL HUESO ES AFECTADO POR MUCHOS TRASTORNOS METABÓLICOS Y GENÉTICOS

El **cuadro 48-12** lista varios de los ejemplos de mayor importancia de trastornos metabólicos y genéticos que afectan el hueso.

La **osteogénesis imperfecta** (huesos frágiles) se caracteriza por fragilidad anormal de los huesos. Las escleróticas a menudo son anormalmente delgadas y translúcidas, y pueden tener aspecto azul debido a una deficiencia de tejido conjuntivo. Se han reconocido **cuatro tipos** de esta enfermedad (leve, extensa, grave y variable), de los cuales el tipo extenso que sucede en el recién nacido es el más ominoso. Los lactantes afectados pueden nacer con múltiples fracturas y no sobrevivir. Más de 90% de los pacientes con osteogénesis imperfecta tiene mutaciones en los genes *COL1A1* y *COL1A2*, que codifican para cadenas proα1(I) y proα2(I), respectivamente. Se han documentado más de 100 mutaciones en estos dos genes, y comprenden deleciones de gen parciales y duplicaciones. Otras mutaciones afectan el empalme del RNA, y el tipo más frecuente da por resultado **remplazo de glicina** por otro aminoácido más voluminoso, que afecta la formación de la triple hélice. En general, estas mutaciones originan menor expresión de colágeno o de cadenas proα estructuralmente anormales que se montan hacia **fibrillas anormales**, lo que debilita la estructura general del hueso. Cuando hay una cadena anormal, puede interactuar con dos cadenas normales, pero tal vez se impide el plegado, lo que causa degra-

CUADRO 48–12 Algunas enfermedades metabólicas y genéticas que afectan el hueso y el cartílago

Enfermedad	Comentarios
Enanismo	Suele deberse a una deficiencia de hormona de crecimiento, pero tiene muchas otras causas.
Raquitismo	Debido a deficiencia de vitamina D durante la niñez.
Osteomalacia	Debida a deficiencia de vitamina D durante la adultez.
Hiperparatiroidismo	El exceso de hormona paratiroidea causa resorción ósea.
Osteogénesis imperfecta (p. ej., OMIM 166200)	Debida a diversas mutaciones en los genes *COL1A1* y *COL1A2* que afectan la síntesis y estructura del colágeno tipo I.
Osteoporosis (OMIM 166710)	Por lo general posmenopáusica; en otros casos es más gradual y se relaciona con la edad; un pequeño número de casos se debe a mutaciones en los genes *COL1A1* y *COL1A2,* y posiblemente en el gen que codifica para receptor de vitamina D
Osteoartritis	Un pequeño número de casos se debe a mutaciones en los genes *COL1A*
Varias condrodisplasias	Debidas a mutaciones en los genes *COL2A1*
Síndrome de Pfeiffer[1] (OMIM 101600)	Mutaciones en el gen que codifica para receptor de crecimiento de fibroblastos 1 (FGFR1)
Síndromes de Jackson-Weiss (OMIM 123150) y Crouzon (OMIM 123500)[1]	Mutaciones en el gen que codifica para FGFR2
Acondroplasia (OMIM 100800) y displasia tanatofórica[2] (OMIM 187600)	Mutaciones en el gen que codifica para FGFR3

[1] Los síndromes de Pfeiffer, Jackson-Weiss y Crouzon son síndromes de craneosinostosis; este último término significa fusión prematura de las suturas en el cráneo.
[2] La displasia tanatofórica (del griego *thanatos* "muerte" + *phoros* "portar") es la más frecuente displasia neonatal mortal del esqueleto; muestra características similares a las de la acondroplasia homocigótica.

dación enzimática de todas las cadenas. Esto se llama "**suicidio del procolágeno"** y es un ejemplo de una mutación negativa dominante, un resultado que suele observarse cuando una proteína consta de múltiples subunidades diferentes.

La **osteopetrosis** (enfermedad de hueso de mármol), caracterizada por **incremento de la densidad ósea**, se debe a la incapacidad para resorber hueso. Una forma ocurre junto con acidosis tubular renal y calcificación cerebral. Se debe a mutaciones en el gen (localizado en el cromosoma 8q22) que codifica para la **anhidrasa carbónica II** (CA II), una de cuatro isozimas de la anhidrasa carbónica presentes en tejidos de seres humanos. A continuación se muestra la reacción catalizada por la anhidrasa carbónica:

$$CO_2 + H_2O \leftrightarrow HO_2CO_3 \leftrightarrow HO^+ + HCO_3^-$$

En osteoclastos involucrados en la resorción ósea, la CA II al parecer proporciona protones para neutralizar los iones de OH^- dejados dentro de la célula cuando se bombean iones de H^+ por sus bordes rugosos (véase antes). De este modo, **si hay actividad deficiente de CA II** en osteoclastos, no sucede resorción ósea normal, y el resultado es osteopetrosis. No está claro el mecanismo de la calcificación cerebral, mientras que la acidosis tubular renal refleja actividad deficiente de CA II en los túbulos renales.

La **osteoporosis** (véase la historia de caso núm. 15 en el cap. 57) es una reducción progresiva generalizada de la masa de tejido óseo por unidad de volumen, lo que suscita debilidad del esqueleto. La proporción entre **elementos minerales** y **orgánicos** no cambia en el hueso restante normal. Ocurren con mucha facilidad fracturas de diversos huesos, como la cabeza del fémur, y representan una enorme carga tanto para los enfermos afectados como para el presupuesto de la sociedad para cuidado de la salud. Entre otros factores, los **estrógenos** y las citocinas **interleucinas 1 y 6** parecen tener una íntima participación en el origen de la osteoporosis.

LOS PRINCIPALES COMPONENTES DEL CARTÍLAGO SON EL COLÁGENO TIPO II Y CIERTOS PROTEOGLUCANOS

En el **cuadro 48-13** se listan las **principales proteínas** del cartílago hialino (el principal tipo de cartílago). El **colágeno tipo II** es la principal proteína (**figura 48-13**); también hay varios otros

CUADRO 48–13 Las principales proteínas que se encuentran en el cartílago

Proteínas	Comentarios
Proteínas colágeno	
Colágeno tipo II	Constituye 90 a 98% del colágeno del cartílago articular. Está compuesto de tres cadenas α1(II).
Colágenos V, VI, IX, X, XI	El colágeno tipo IX forma enlaces cruzados con el tipo II. El tipo XI puede ayudar a controlar el diámetro de fibrillas tipo II.
Proteínas no colágeno	
Proteoglucanos	El principal proteoglucano del cartílago.
Agrecano	Se encuentra en algunos tipos de cartílago.
Proteoglucano grande sin agregación	
DS-PG I (biglicano)[1]	Similar a la CS-PG I del hueso.
DS-PG II (decorina)	Similar a la CS-PG II del hueso.
Condronectina	Puede participar en la unión del colágeno tipo II a la superficie del cartílago.
Ancorina C II	Puede unir el colágeno tipo II a la superficie del condrocito.

[1] Las proteínas centrales de DS-PG I y DS-PG II son homólogas a las de CS-PG I y CS-PG II que se encuentran en el hueso (cuadro 48-11). Una posible explicación es que los osteoblastos carecen de la epimerasa requerida para convertir el ácido glucurónico en ácido idurónico, el segundo de los cuales se encuentra en el dermatán sulfato.

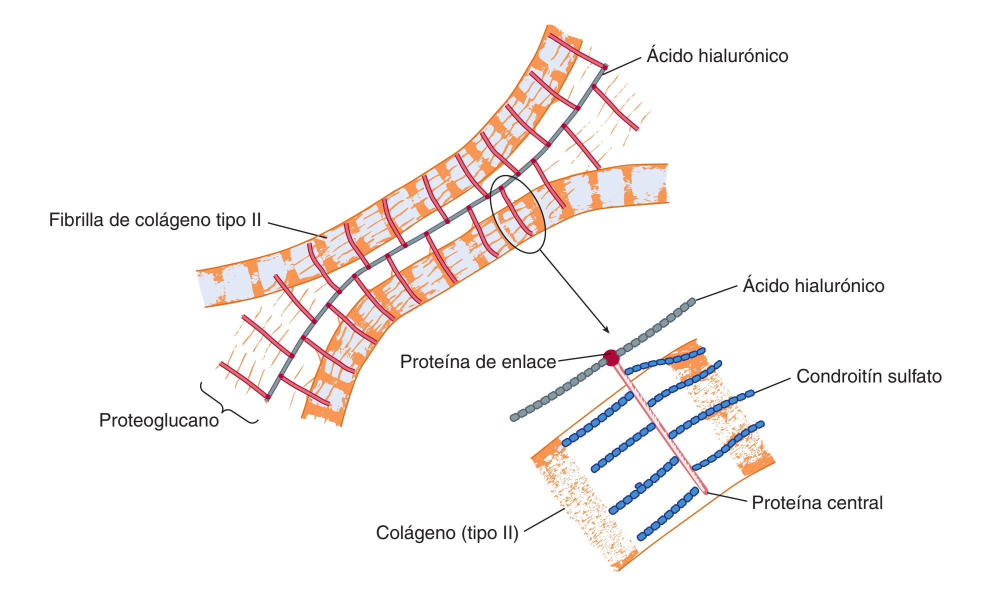


FIGURA 48–13 Representación esquemática de la organización molecular en la matriz de cartílago. Proteínas de enlace unen de modo no covalente la proteína central (color más claro) de proteoglucanos a las moléculas de ácido hialurónico lineales (color más oscuro). Las cadenas laterales de condroitín sulfato del proteoglucano se unen de manera electrostática a las fibrillas de colágeno, lo que forma una matriz con enlaces cruzados. El óvalo esboza el área agrandada en la parte inferior de la figura. (Reproducida, con autorización, de Junqueira LC, Carneiro J: *Basic Histology: Text & Atlas,* 10th ed. McGraw-Hill, 2003.)

tipos de colágeno menores. Además de estos componentes, el cartílago elástico contiene elastina, y el cartílago fibroelástico contiene colágeno tipo I. El cartílago contiene varios **proteoglucanos**, que pueden tener importancia en su compresibilidad. El **agrecano** (alrededor de 2×10^3 kDa) es el principal proteoglucano. Tiene una estructura muy compleja (**figura 48-14**), que contiene varios GAG (ácido hialurónico, condroitín sulfato y queratán sulfato) y proteínas tanto de enlace como central. La proteína central contiene tres dominios: A, B y C. El ácido hialurónico se une de manera no covalente al dominio A de la proteína central, así como a la proteína de enlace, que estabiliza las interacciones entre hialuronato y proteína central. Las cadenas de queratán sulfato están situadas en el dominio B, mientras que las de condroitín sulfato lo están en el dominio C; estos dos tipos de GAG están unidos de modo covalente a la proteína central. La proteína central también contiene cadenas de oligosacárido tanto *O*-enlazadas como *N*-enlazadas.

Los otros proteoglucanos que se encuentran en el cartílago tienen estructuras más simples que el agrecano.

La **condronectina** participa en la fijación de colágeno tipo II a condrocitos.

El cartílago es un tejido avascular y obtiene la mayor parte de sus nutrientes a partir del líquido sinovial. Muestra **recambio** lento pero continuo. Diversas **proteasas** (p. ej., colagenasas

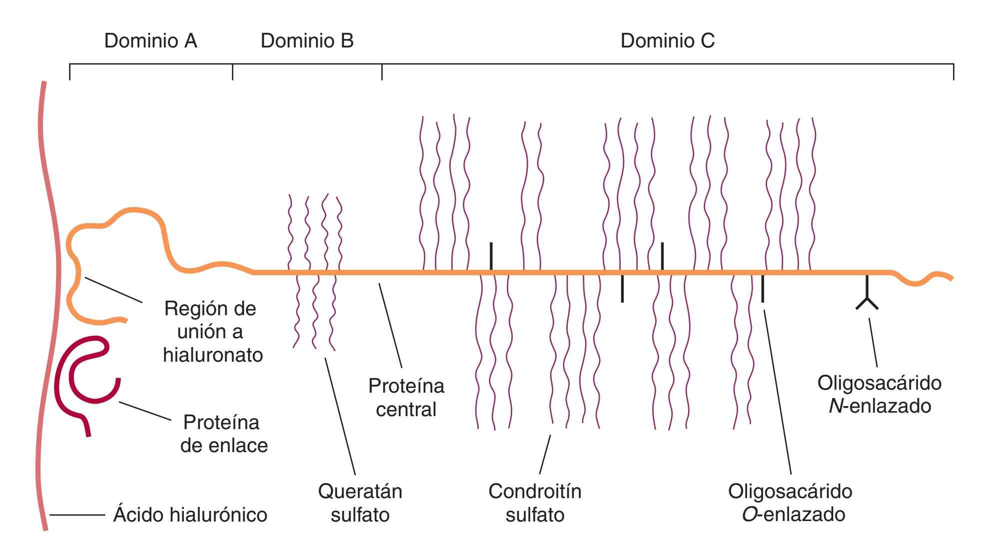


FIGURA 48–14 Diagrama esquemático del agrecano de cartílago nasal de bovino. A la izquierda se muestra una cadena de ácido hialurónico. La proteína central (de alrededor de 210 kDa) tiene tres dominios principales. El dominio A, en su extremo amino terminal, interactúa con aproximadamente cinco disacáridos repetitivos en el hialuronato. La proteína de enlace interactúa tanto con hialuronato como con el dominio A, y estabiliza sus interacciones. Alrededor de 30 cadenas de queratán sulfato están fijas, mediante enlaces GalNAc-Ser, al dominio B. El dominio C contiene aproximadamente 100 cadenas de condroitín sulfato fijas por medio de enlaces Gal-Gal-Xil-Ser, y alrededor de 40 cadenas de oligosacárido *O*-enlazadas. Una o más cadenas de glucano *N*-enlazadas también se encuentran cerca del carboxilo terminal de la proteína central. (Moran LA *et al.*: *Biochemistry,* 2nd ed. © 1994, p. 9-34. Adaptada con autorización de Pearson Education, Inc., Upper Saddle River, NJ.)

y estromalisina) sintetizadas por condrocitos pueden **degradar colágeno** y las otras proteínas que se encuentran en el cartílago. La interleucina-1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral α (TNFα) parecen estimular la producción de esas proteasas, mientras que el TGFβ y el factor de crecimiento parecido a la insulina 1 (IGF-1) por lo general ejercen una influencia anabólica sobre el cartílago.

LAS BASES MOLECULARES DE LAS CONDRODISPLASIAS INCLUYEN MUTACIONES EN GENES QUE CODIFICAN PARA COLÁGENO TIPO II Y RECEPTORES DEL FACTOR DE CRECIMIENTO DE FIBROBLASTOS

Las condrodisplasias son un grupo mixto de trastornos hereditarios que afectan el cartílago. Se manifiestan por enanismo con extremidades cortas, y muchas deformidades esqueléticas. Varias de ellas se deben a diversas mutaciones del gen *COL2A1*, lo que lleva a formas anormales de colágeno tipo II. Un ejemplo es el **síndrome de Stickler**, manifestado por degeneración del cartílago articular y del cuerpo vítreo.

La mejor conocida de las condrodisplasias es la **acondroplasia**, la causa más frecuente de **enanismo con extremidades cortas**. Los afectados tienen extremidades cortas, tamaño normal del tronco, macrocefalia, y varias otras anormalidades del esqueleto. La enfermedad a menudo se hereda como un rasgo autosómico dominante, pero muchos casos se deben a mutaciones nuevas. En la **figura 48-15** se esbozan las bases moleculares de la acondroplasia. La acondroplasia no es un trastorno del colágeno, sino que se debe a mutaciones del gen que codifica para receptor de **factor de crecimiento de fibroblastos 3** (**FGFR3**). Los **factores de crecimiento de fibroblastos** son una familia de al menos nueve proteínas que afectan el crecimiento y la diferenciación de células de origen mesenquimatoso y neuroectodérmico. Sus **receptores** son proteínas transmembrana y forman un subgrupo de la familia del receptor de tirosina cinasas. El FGFR3 es un miembro de este subgrupo, de cuatro, y media las acciones del FGF3 sobre el cartílago. En la mayor parte de los casos de acondroplasia que se han investigado, se halló que las mutaciones comprendieron el nucleótido 1138 y ocasionaron sustitución de glicina por arginina (residuo número 380) en el dominio transmembrana de la proteína, lo que lo hace inactivo. En individuos no afectados no se encontró esa mutación.

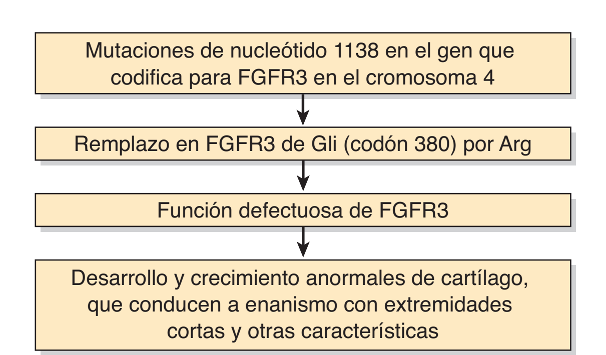


FIGURA 48–15 Esquema simplificado de la causa de la acondroplasia (OMIM 100800). En la mayor parte de los casos estudiados hasta ahora, la mutación ha sido una transición de G a A en el nucleótido 1138. En algunos casos, la mutación fue una transversión de G a C en el mismo nucleótido; este nucleótido particular es un "área peligrosa" real para mutación. Ambas mutaciones producen el remplazo de un residuo Gli por un residuo Arg en el segmento transmembrana del receptor. También se han reportado algunos casos que comprenden el remplazo de Gli por Cis en el codón 375.

De manera más bien sorprendente, otras mutaciones en el mismo gen pueden traducirse en **hipocondrodisplasia**, **displasia tanatofórica** (tipos I y II) y el **fenotipo SADDAN** (acondroplasia grave con retraso del desarrollo y *acantosis nigricans* [esta última es una hiperpigmentación de color pardo a negro de la piel]).

Otras displasias del esqueleto (entre ellas ciertos síndromes de craneosinostosis) también se deben a mutaciones en genes que codifican para receptores de FGF (cuadro 48-12). Se ha hallado que otro tipo de displasia del esqueleto (displasia diastrófica) se debe a mutación de un transportador de sulfato. De este modo, gracias a la tecnología de DNA recombinante, ha empezado una nueva era en la comprensión de las displasias del esqueleto.

RESUMEN

- Los principales componentes de la ECM son las proteínas estructurales colágeno, elastina y fibrilina-1; varias proteínas especializadas (p. ej., fibronectina y laminina), y varios proteoglucanos.
- El colágeno es la proteína más abundante en el reino animal; se han aislado aproximadamente 28 tipos. Todos los colágenos contienen tramos mayores o menores de triple hélice y la estructura repetitiva $(Gli\text{-}X\text{-}Y)_n$.
- La biosíntesis de colágeno es compleja, con muchos eventos postraduccionales, entre ellos hidroxilación de prolina y lisina.
- Las enfermedades vinculadas con síntesis alterada de colágeno incluyen escorbuto, osteogénesis imperfecta, síndrome de Ehlers-Danlos (muchos tipos) y enfermedad de Menkes.
- La elastina confiere extensibilidad y retroceso elástico a los tejidos. La elastina carece de hidroxilisina, secuencias Gli-X-Y, estructura de triple hélice, y azúcares, pero contiene enlaces cruzados de desmosina e isodesmosina que no se encuentran en el colágeno.
- La fibrilina-1 se encuentra en las microfibrillas. Las mutaciones del gen que codifica para fibrilina-1 dan por resultado síndrome de Marfan. La citocina TGF-β parece contribuir a la enfermedad cardiovascular.
- Los glucosaminoglucanos (GAG) están constituidos de disacáridos repetitivos que contienen un ácido urónico (glucurónico o idurónico) o hexosa (galactosa) y una hexosamina (galactosamina o glucosamina). También suele haber sulfato.
- Los principales GAG son ácido hialurónico, condroitín 4- y 6-sulfatos, queratán sulfatos I y II, heparina, heparán sulfato y dermatán sulfato.
- Los GAG se sintetizan mediante las acciones secuenciales de una batería de enzimas específicas (glucosiltransferasas, epimerasas,

sulfotransferasas, etc.) y se degradan por medio de la acción secuencial de hidrolasas lisosómicas. Las deficiencias genéticas de estas últimas originan mucopolisacaridosis (p. ej., síndrome de Hurler).

- Los GAG se encuentran en tejidos unidos a diversas proteínas (proteínas enlazadoras y proteínas centrales), que constituyen proteoglucanos. A menudo son de peso molecular muy alto y desempeñan muchas funciones en los tejidos.
- Muchos componentes de la ECM se unen a proteínas de la superficie celular denominadas integrinas; esto constituye una vía mediante la cual los exteriores de las células pueden comunicarse con sus interiores.
- El hueso y el cartílago son formas especializadas de la ECM. El colágeno I y la hidroxiapatita son los principales constituyentes del hueso. El colágeno II y ciertos proteoglucanos son constituyentes importantes del cartílago.
- La aplicación de tecnología de DNA recombinante está revelando las causas moleculares de diversas enfermedades hereditarias del hueso (p. ej., osteogénesis imperfecta) y el cartílago (p. ej., las condrodistrofias).

REFERENCIAS

Baldridge D, Shchelochkov O, Kelley B, Lee B: Signaling pathways in human skeletal dysplasias. Annu Rev Genomics Human Genet 2010;11:189.

Couchman JR: Transmembrane signaling proteoglycans. Annu Rev Cell Develop Biol 2010;26:89.

Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, et al: *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 17th ed. McGrawHill, 2008. (Chapter 357, *Heritable Disorders of Connective Tissue;* Chapter 355, *Lysosomal Storage Diseases;* Chapter 326, *Osteoarthritis;* Chapter 346, *Bone and Mineral Metabolism in Health and Disease;* Chapter 349, *Paget Disease and Other Dysplasias of Bone*).

Karsenty G, Kronenberg HM, Settembre C: Genetic control of bone formation. Ann Rev Cell Develop Biol 2009;25:629.

Khosla S, Westendorf JJ, Oursler MJ: Building bone to reverse osteoporosis and repair fractures. J Clin Invest 2008; 118:421.

Neufeld EF: From serendipity to therapy. Annu Rev Biochem 2011;80. (Redacta trabajos iniciales acerca de las causas y tratamiento de la mucopolisacaridosis.)

Rowe RG, Weiss SJ: Navigating ECM barriers at the invasive front: the cancer cell–stroma interface. Annu Rev Cell Develop Biol 2009;25:567.

Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001. (Este amplio cuarto volumen del texto y su versión actualizada en línea [vea el capítulo 1] contienen capítulos sobre trastornos de la biosíntesis y estructura del colágeno, síndrome de Marfan, mucopolisacáridos, acondroplasia, síndrome de Alport y síndromes de craneosinostosis.)

Seeman E, Delams PD: Bone quality—the material and structural basis of bone strength and fragility. N Engl J Med 2006;354:2250.

Shoulders MD, Raines RT: Collagen structure and stability. Ann Rev Biochem 2009;78:929.

C A P Í T U L O

49

Músculo y citoesqueleto

Robert K. Murray, MD, PhD

O B J E T I V O S

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Entender las características bioquímicas generales de la contracción de los músculos esquelético, cardiaco y liso.
- Conocer los efectos biológicos del óxido nítrico (NO).
- Indicar los diferentes combustibles metabólicos requeridos para un *sprint* y para el maratón.
- Conocer las estructuras y funciones generales de los principales componentes del citoesqueleto, a saber: los microfilamentos, los microtúbulos y los filamentos intermedios.
- Comprender las bases de la hipertermia maligna, las distrofias musculares de Duchenne y Becker, las cardiomiopatías hereditarias, el síndrome de Hutchinson-Gilford (progeria) y varias de las enfermedades de la piel debidas a queratinas anormales.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las proteínas tienen importancia en el **movimiento** en los ámbitos tanto de órgano (p. ej., músculo esquelético, corazón e intestino) como celular. En este capítulo, se describen las funciones de proteínas específicas y algunas otras moléculas clave (p. ej., Ca^{2+}) en la **contracción muscular**. También se presenta una breve cobertura de las **proteínas citoesqueléticas**.

El conocimiento de la base molecular de varias enfermedades que afectan el músculo ha avanzado mucho durante los últimos años. El entendimiento de la base molecular de la **distrofia muscular tipo Duchenne** aumentó mucho cuando se encontró que se debía a mutaciones del gen que codifica para distrofina (véase la historia de caso núm. 7 en el cap. 57). También se ha logrado progreso importante en el entendimiento de la base molecular de la **hipertermia maligna**, una seria complicación en algunos pacientes que reciben ciertos tipos de anestesia. La **insuficiencia cardiaca** es una enfermedad médica muy frecuente, con diversas causas; su terapia racional exige entendimiento de las características bioquímicas del músculo cardiaco. Un grupo de enfermedades que causa insuficiencia cardiaca son las **miocardiopatías**, algunas de las cuales están determinadas por mecanismos genéticos. Se ha encontrado que el óxido nítrico (NO) es un importante regulador del tono del músculo liso. Muchos **vasodilatadores** ampliamente usados —como la nitroglicerina, que se utiliza en el tratamiento de angina de pecho— actúan al aumentar la formación de NO. El músculo, debido en parte a su masa, desempeña funciones importantes en el **metabolismo general** del organismo.

EL MÚSCULO TRANSDUCE ENERGÍA QUÍMICA HACIA ENERGÍA MECÁNICA

El músculo es el principal **transductor** bioquímico (máquina) que convierte energía potencial (química) en energía cinética (mecánica). El músculo, el tejido único de mayor tamaño en el cuerpo del ser humano, constituye poco menos de 25% de la masa corporal en el momento del nacimiento, más de 40% en el adulto joven, y poco menos de 30% en el adulto de edad avanzada. Se comentarán aspectos de los tres tipos de músculo que se encuentran en vertebrados: **esquelético**, **cardiaco** y **liso**. El músculo tanto esquelético como cardiaco tiene aspecto **estriado** en la observación al microscopio; el músculo liso es **no estriado**. Si bien el músculo esquelético está bajo el control nervioso voluntario, el control de los músculos tanto cardiaco como liso es involuntario.

El sarcoplasma de las células musculares contiene ATP, fosfocreatina y enzimas glucolíticas

El músculo estriado está compuesto por células de fibras musculares multinucleadas rodeadas por una membrana plasmática eléctricamente excitable, el **sarcolema**. Una célula de fibra muscular individual, que puede extenderse por toda la longitud del músculo, contiene un fascículo de muchas **miofibrillas** dispuestas en paralelo, embebidas en el líquido intracelular llamado

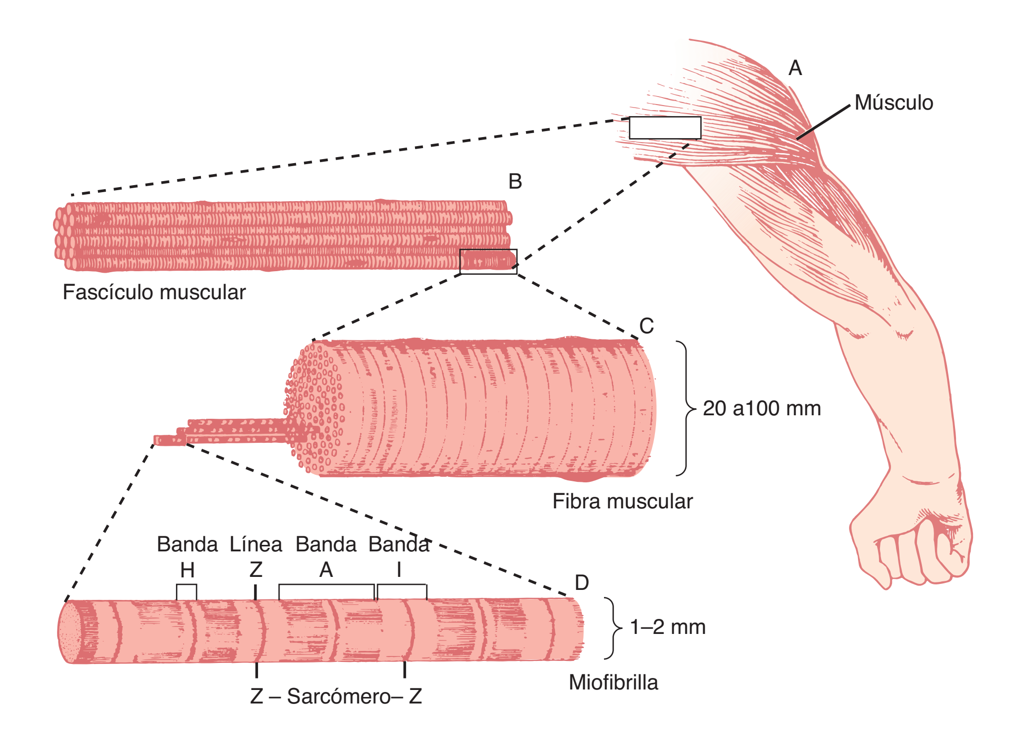


FIGURA 49–1 Estructura del músculo voluntario. El sarcómero es la región entre las líneas Z. (Dibujada por Sylvia Colard Keene. Reproducida, con autorización, de Bloom W, Fawcett DW: *A Textbook of Histology,* 10th ed. Saunders, 1975.)

sarcoplasma. Dentro de este líquido hay glucógeno, los compuestos de alta energía ATP y fosfocreatina, y enzimas de la glucólisis.

El sarcómero es la unidad funcional del músculo

En la **figura 49-1** se presenta una perspectiva general del músculo voluntario en varios niveles de organización.

Cuando la **miofibrilla** se examina mediante microscopia electrónica, pueden observarse bandas oscuras y claras alternantes (bandas anisotrópicas, que significa birrefringentes en la luz polarizada, y bandas isotrópicas, que significa no alteradas por la luz polarizada). Así, estas bandas se denominan **bandas A e I**, respectivamente. La región central de la banda A (la banda H) tiene aspecto menos denso que el resto de la banda. La banda I está bisecada por una **línea Z** muy densa y estrecha (**figura 49-2**).

El **sarcómero** se define como la región entre dos líneas Z (figuras 49-1 y 49-2) y se repite a lo largo del eje de una fibrilla a distancias de 1 500 a 2 300 nm dependiendo de la etapa de la contracción.

El aspecto **estriado** de los músculos voluntario y cardiaco en estudios con microscopia óptica depende de su alto grado de organización, en la cual la mayor parte de las células de la fibra muscular están alineadas de modo que sus sarcómeros se encuentran en registro paralelo (figura 49-1).

Los filamentos gruesos contienen miosina, y los delgados, actina, tropomiosina y troponina

Cuando se examinan **miofibrillas** mediante microscopia electrónica, parece ser que cada una está construida por dos tipos de filamentos longitudinales. Un tipo, el **filamento grueso**, confinado a la banda A, contiene principalmente la proteína miosina. Estos filamentos tienen alrededor de 16 nm de diámetro, y están dispuestos en el corte transversal en forma hexagonal (figura 49-2, centro; corte transversal del lado derecho).

El **filamento delgado** (de alrededor de 7 nm de diámetro) yace en la banda I, y se extiende hacia la banda A pero no hacia su zona H (figura 49-2). Los filamentos delgados contienen las proteínas actina, tropomiosina y troponina (**figura 49-3**). En la banda A, los filamentos delgados están dispuestos alrededor del filamento grueso (miosina) como una disposición hexagonal secundaria. Cada filamento delgado yace de manera simétrica entre tres filamentos gruesos (fig. 49-2, centro; corte transversal de en medio), y cada filamento grueso está rodeado de manera simétrica por seis filamentos delgados.

Los filamentos grueso y delgado interactúan por medio de **puentes transversales** que surgen a intervalos de 14 nm a lo largo de los filamentos gruesos. Los puentes transversales (figura 49-2, dibujados como puntas de flecha en cada extremo de los filamentos de miosina, pero no mostrados extendiéndose por completo a través de los filamentos delgados) tienen polaridades opuestas en los dos extremos de los filamentos gruesos. Los dos polos de los filamentos gruesos están separados por un segmento de 150 nm (la banda M, no marcada en la figura) que está libre de proyecciones.

El modelo de puente transversal de filamento deslizante es el fundamento del pensamiento actual acerca de la contracción muscular

Este modelo fue propuesto de manera independiente durante el decenio de 1950-1959 por Henry Huxley y Andrew Huxley y sus

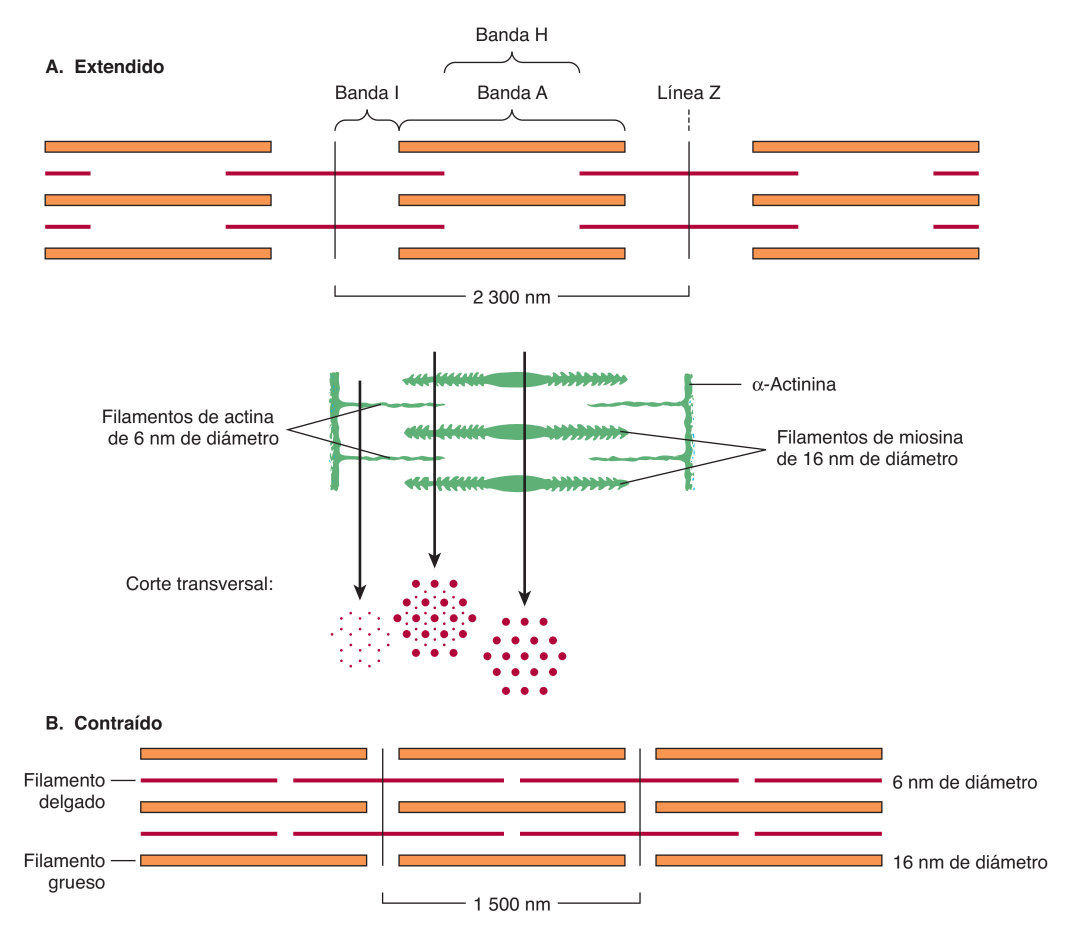


FIGURA 49–2 **Disposición de los filamentos en el músculo estriado. (A)** Extendido. Se muestran las posiciones de las bandas I, A y H en el estado extendido. Los filamentos delgados se superponen en parte con los extremos de los filamentos gruesos, y los filamentos delgados se muestran fijos a las líneas Z (a menudo llamadas discos Z). En la parte inferior de la figura 49-2A hay "puntas de flecha", que apuntan en direcciones opuestas y que emanan de los filamentos de miosina (gruesos). Se observan cuatro filamentos de actina (delgados) fijos a dos líneas Z mediante α-actinina. La región central de los tres filamentos de miosina, libre de puntas de flecha, se llama banda M (no marcada). Se muestran cortes transversales a través de las bandas M, a lo largo de un área donde los filamentos de miosina y actina se superponen, y de un área en la cual sólo hay filamentos de actina. **(B)** Contraído. Se observa que los filamentos de actina se han deslizado uno hacia otro a lo largo de los lados de las fibras de miosina. Las longitudes de los filamentos gruesos (indicadas por las bandas A) y los filamentos delgados (distancia entre las zonas Z y los bordes adyacentes de las bandas H) no han cambiado. Con todo, las longitudes de los sarcómeros se han reducido (desde 2 300 hasta 1 500 nm), al igual que las de las bandas H e I debido a la superposición entre los filamentos grueso y delgado. Estas observaciones morfológicas proporcionaron parte de la base para el modelo del filamento deslizante de la contracción muscular.

colegas. Se basó en gran parte en observaciones morfológicas cuidadosas en músculo en reposo, extendido y en contracción. Básicamente, cuando el músculo se contrae, no hay cambio de la longitud de los filamentos gruesos y delgados, pero las zonas H y las bandas I se acortan (véase el pie de la figura 49-2). Así, las disposiciones de filamentos interdigitados deben **deslizarse más allá una de otra** durante la contracción. Los **puentes transversales** que enlazan filamentos gruesos y delgados en determinadas etapas del ciclo de contracción generan la tensión y la sostienen. La tensión creada durante la contracción muscular es proporcional a la superposición de filamento y al número de puentes transversales. Cada cabeza de puente transversal está conectada al filamento grueso por medio de un segmento fibroso flexible que se puede flexionar hacia afuera desde el filamento grueso. Este segmento flexible facilita el contacto de la cabeza con el filamento delgado cuando es necesario, pero también es suficientemente flexible como para adaptarse en el espacio interfilamento.

LA ACTINA Y MIOSINA SON LAS PRINCIPALES PROTEÍNAS DEL MÚSCULO

La masa de un músculo está constituida por 75% de agua y más de 20% de proteína. Las dos proteínas principales son la actina y la miosina.

La **actina G** monomérica (43 kDa; G, globular) constituye 25% de la proteína muscular por peso. A fuerza iónica fisiológica y en presencia de Mg^{2+}, la actina G se polimeriza de modo no covalente para formar un doble filamento helicoidal insoluble llamado actina F (figura 49-3). La fibra de **actina F** tiene 6 a 7 nm de grosor, y una estructura repetitiva cada 35.5 nm.

Las **miosinas** constituyen una familia de proteínas; se han identificado al menos 12 clases en el genoma del ser humano. La miosina que se comenta en este capítulo es la **miosina-II**, y cuando se hace referencia a la miosina en este libro, se alude a esta especie a menos que se indique lo contrario. La miosina-I es

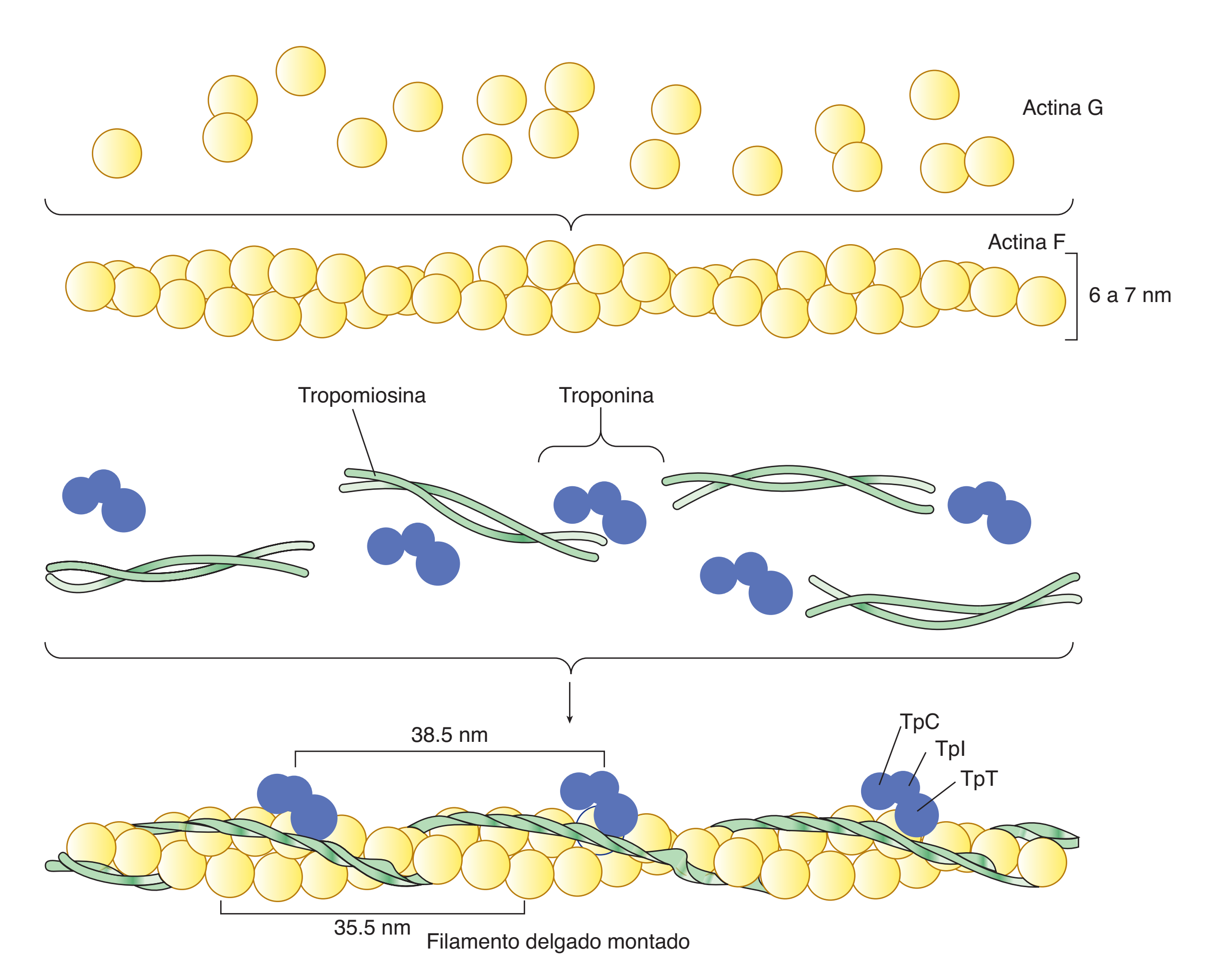


FIGURA 49–3 Representación esquemática del filamento delgado, que muestra la configuración espacial de sus tres componentes proteínicos principales: actina, miosina y tropomiosina. El panel superior muestra moléculas individuales de actina G. El panel de en medio muestra monómeros de actina montados hacia actina F. También se muestran moléculas individuales de tropomiosina (dos cadenas que giran una alrededor de la otra) y de troponina (constituidas por tres subunidades). El panel inferior muestra el filamento delgado montado, que consta de actina F, tropomiosina y las tres subunidades de troponina (TpC, TpI y TpT).

una especie monomérica que se une a las membranas celulares. Puede servir como un enlace entre microfilamentos y la membrana celular en ciertas ubicaciones.

La **miosina** contribuye con 55% de la proteína muscular por peso, y forma los **filamentos gruesos**. Es un hexámero asimétrico con una masa molecular de aproximadamente 460 kDa. La miosina tiene una cola fibrosa que consta de dos hélices entrelazadas. Cada hélice tiene una porción de cabeza globular fija en un extremo (**figura 49-4**). El hexámero consta de un par de **cadenas pesadas** (**H**), cada una con una masa molecular de aproximadamente 200 kDa, y dos pares de **cadenas ligeras** (**L**), cada una con una masa molecular de alrededor de 20 kDa. Las cadenas L difieren; una se denomina la cadena ligera **esencial**, y la otra la cadena ligera **reguladora**. La miosina del músculo esquelético se une a la actina para formar **actomiosina** (actina-miosina), y su actividad de ATPasa intrínseca está notoriamente aumentada en este complejo. Hay isoformas de miosina cuyas cantidades pueden variar en diferentes situaciones anatómicas, fisiológicas y patológicas.

Las estructuras de la actina y de la cabeza de miosina se han determinado mediante cristalografía con rayos X; estos estudios han confirmado varios datos más tempranos respecto a sus estructuras, y han dado lugar también a mucha información nueva.

La digestión limitada de miosina con proteasas ha ayudado a dilucidar su estructura y función

Cuando la miosina se digiere con **tripsina**, se generan dos fragmentos de miosina (meromiosinas). La **meromiosina ligera** (LMM) consta de fibras helicoidales α insolubles, agregadas, desde la cola de miosina (figura 49-4). La LMM no muestra actividad de ATPasa, y no se une a la actina F.

La **meromiosina pesada** (HMM; masa molecular de alrededor de 340 kDa) es una proteína soluble que tiene tanto una porción fibrosa como una porción globular (figura 49-4). Muestra actividad de **ATPasa** y se une a la actina F. La digestión de la HMM con **papaína** genera dos subfragmentos, S-1 y S-2. El fragmento S-2 es de carácter fibroso, carece de actividad de ATPasa, y no se une a la actina F.

El **S-1** (masa molecular de aproximadamente 115 kDa) muestra actividad de ATPasa, se une a cadenas L, y en ausencia de

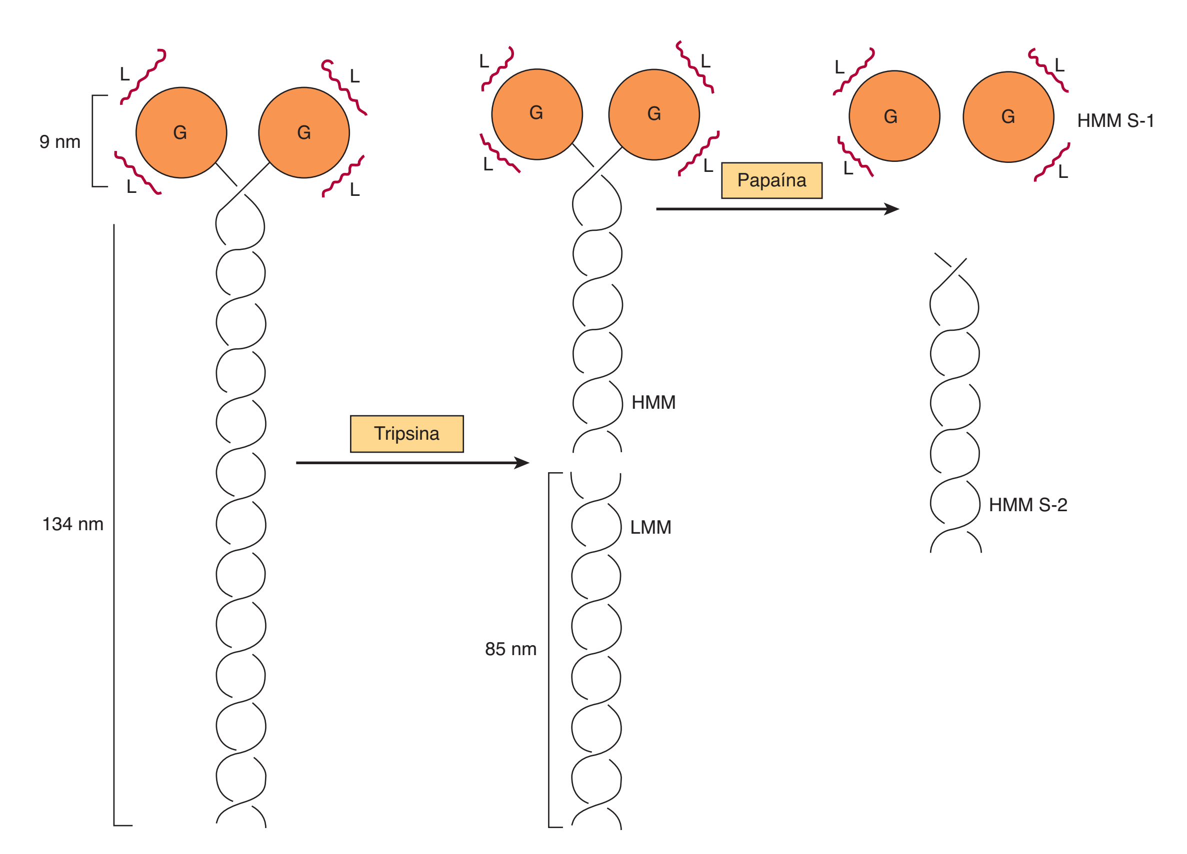


FIGURA 49–4 Diagrama de una molécula de miosina que muestra las dos hélices α entremezcladas (porción fibrosa), la región globular de la cabeza (G), las cadenas ligeras (L), y los efectos de la división proteolítica por tripsina y papaína. La región globular (cabeza de miosina) contiene un sitio de unión a actina y un sitio de unión a cadena L, y se fija también al resto de la molécula de miosina.

ATP se unirá a actina y la decorará con "puntas de flecha" (**figura 49-5**). Tanto S-1 como HMM muestran actividad de **ATPasa**, que se acelera 100 a 200 veces al formar complejos con actina F. La actina F aumenta mucho el índice al cual la ATPasa de miosina libera sus productos, ADP y P_i (véase más adelante). De esta manera, aunque la **actina F** no afecta el paso de hidrólisis en sí, su capacidad para **promover la liberación** de los productos sintetizados por la actividad de ATPasa acelera mucho el índice general de catálisis.

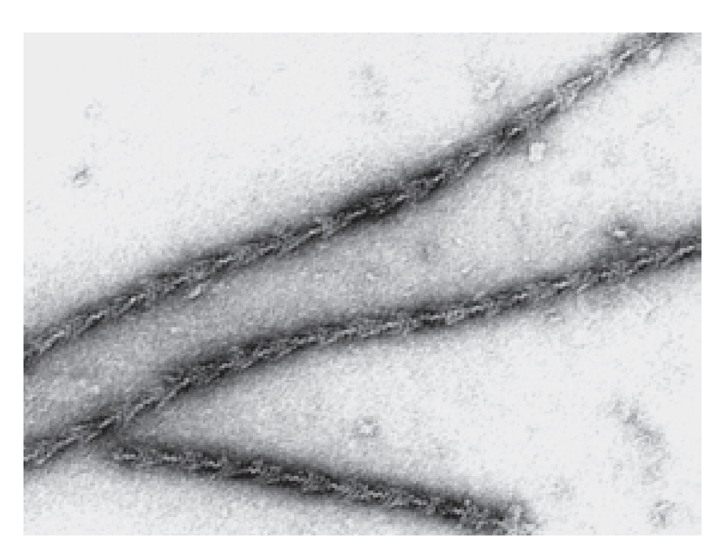


FIGURA 49-5 La decoración de filamentos de actina con los fragmentos S-1 de miosina para formar "puntas de flecha". (Cortesía de JA Spudich.)

LOS CAMBIOS EN LA CONFORMACIÓN DE LA CABEZA DE MIOSINA IMPULSAN LA CONTRACCIÓN MUSCULAR

¿De qué modo la hidrólisis del ATP puede producir movimiento macroscópico? La contracción muscular consta en esencia de **la fijación y el desprendimiento** cíclicos de la cabeza S-1 de miosina a los filamentos de actina F. Este proceso también puede denominarse formación y rotura de puentes transversales. La fijación de actina a la miosina va seguida por **cambios conformacionales** que tienen particular importancia en la cabeza S-1, y dependen de cuál nucleótido está presente (ADP o ATP). Tales cambios dan por resultado el **golpe de potencia**, que impulsa el movimiento de filamentos de actina más allá de los filamentos de miosina. La energía para el golpe de potencia finalmente es proporcionada por el **ATP**, que se hidroliza hacia ADP y P_i. Sin embargo, el golpe de potencia en sí ocurre como resultado de **cambios conformacionales** en la cabeza de miosina cuando el **ADP** la abandona.

Los principales eventos bioquímicos que ocurren durante un ciclo de contracción y relajación musculares pueden representarse en los cinco pasos que se muestran en la **figura 49-6**, y son como sigue:

1. En la **fase de relajación** de la contracción muscular, la cabeza de miosina S-1 hidroliza ATP hacia ADP y P_i, pero estos

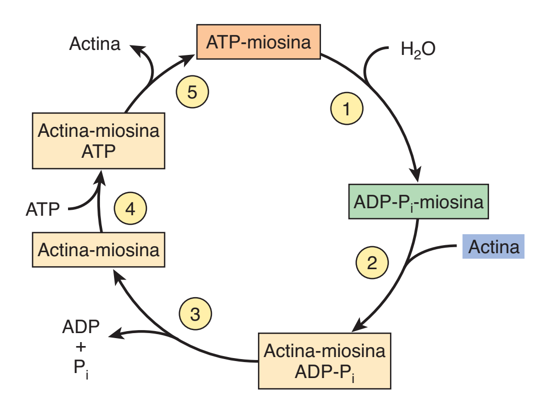


FIGURA 49–6 La hidrólisis del ATP impulsa la asociación y disociación cíclicas de la actina y miosina en cinco reacciones descritas en el texto. (Modificada, con autorización, de Stryer L: *Biochemistry*, 2nd ed. Freeman, 1981. Copyright © 1981 por W. H. Freeman and Company.)

productos permanecen unidos. El complejo ADP-P_i-miosina resultante se ha energizado y se encuentra en una conformación denominada de alta energía.

2. Cuando la **contracción** del músculo es estimulada (por medio de fenómenos que comprenden Ca^{2+}, troponina, tropomiosina y actina, que se describen más adelante), la actina se hace accesible, y la cabeza S-1 de la miosina la encuentra, se une a ella, y forma el complejo de actina-miosina-ADP-P_i indicado.
3. La formación de este complejo **promueve la liberación de P_i**, lo que inicia el golpe de poder. Esto va seguido por liberación de ADP, y se acompaña de un cambio conformacional grande en la cabeza de miosina en relación con su cola (**figura 49-7**), que tira de la actina alrededor de 10 nm hacia el centro del sarcómero; éste es el **golpe de potencia**. La miosina ahora se encuentra en un estado llamado de baja energía, indicado como actina-miosina.
4. Otra molécula de ATP se une a la cabeza S-1, y forma un complejo de actina-miosina-ATP.
5. La miosina-ATP tiene baja afinidad por la actina y, así, **se libera la actina**. Este último paso es el componente clave de la relajación, y depende de la unión del ATP al complejo de actina-miosina.

A continuación comienza **otro ciclo** con la hidrólisis de ATP (paso 1 de la figura 49-6), lo que vuelve a constituir la conformación de alta energía.

De esta manera, la hidrólisis del ATP se usa para impulsar el ciclo; el golpe de potencia real es el cambio conformacional en la cabeza S-1 que ocurre en el momento de liberación de ADP. Las **regiones bisagra** de la miosina (a las cuales se hace referencia como puntos flexibles en cada extremo de S-2 en la leyenda de la figura 49-7) permiten el gran rango de movimiento de S-1, y que S-1 encuentre filamentos de actina.

Si las **concentraciones intracelulares de ATP disminuyen** (p. ej., después de la muerte), no hay ATP disponible para unirse a la cabeza S-1 (paso 4, véase antes), la **actina no se disocia**, y no ocurre relajación (paso 5). Ésta es la explicación del ***rigor mortis***, la rigidez del cuerpo que ocurre después de la muerte.

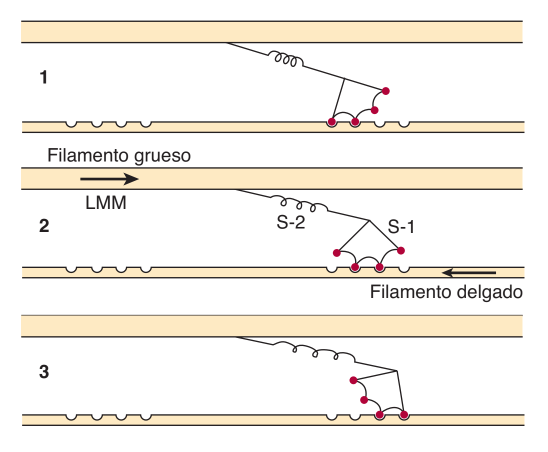


FIGURA 49–7 Representación de los puentes transversales activos entre filamentos delgados y gruesos. Este diagrama fue adaptado por AF Huxley a partir de HE Huxley: The mechanism of muscular contraction. Science 1969;164:1356. Este último propuso que la fuerza involucrada en la contracción muscular se origina en una tendencia a que la cabeza de miosina (S-1) rote respecto al filamento delgado y se transmita hacia el filamento grueso por la porción S-2 de la molécula de miosina que actúa como un enlace inextensible. Puntos flexibles en cada extremo de S-2 permiten que S-1 rote, y que haya variaciones de la separación entre los filamentos. La presente figura se basa en la propuesta de HE Huxley, pero también incorpora elementos elásticos (las vueltas en la porción S-2) y elementos de acortamiento por pasos (descritos aquí como cuatro sitios de interacción entre la porción S-1 y el filamento delgado). (Véase Huxley AF, Simmons RM: Proposed mechanism of force generation in striated muscle. Nature [Lond] 1971;233:533.) Las fuerzas de unión de los sitios fijos son más altas en la posición 2 que en la 1, y más altas en la posición 3 que en la 2. La cabeza de miosina puede desprenderse de la posición 3 con la utilización de una molécula de ATP; éste es el proceso predominante durante el acortamiento. Se observa que la cabeza de miosina varía en su posición desde alrededor de 90° hasta aproximadamente 45°, como se indica en el texto (S-1, cabeza de miosina; S-2, porción de la molécula de miosina; LMM, meromiosina ligera) (véase el pie de figura 49-4). (Reproducida de Huxley AF: Muscular contraction. J Physiol 1974;243:1. Por la amable autorización del autor y de *Journal of Physiology*.)

Los cálculos han indicado que la **eficiencia** de la contracción es de alrededor de 50%; la del motor de combustión interna es de menos de 20%.

La tropomiosina y el complejo de troponina presentes en filamentos delgados desempeñan funciones clave en el músculo estriado

En el músculo estriado, hay otras dos proteínas que son menores en cuanto a su masa, pero importantes en términos de su función. La **tropomiosina** es una molécula fibrosa que consta de dos cadenas, alfa y beta, que se fijan a la actina F en el surco entre sus filamentos (figura 49-3). La tropomiosina está presente en todas las estructuras musculares y parecidas a músculo. El **complejo de troponina** es singular para el músculo estriado, y consta de tres polipéptidos. La **troponina T** (TpT) se une a la tropomiosina, así como a los otros dos componentes de la troponina. La **troponina I** (TpI) inhibe la interacción entre actina F y miosina, y se une también a los otros componentes de la troponina. La **troponina C** (TpC) es un polipéptido de unión a calcio, análogo desde los puntos de vista estructural y funcional a la **calmodulina**,

una importante proteína de unión a calcio ampliamente distribuida en la naturaleza. Cuatro moléculas de ion de calcio se unen por cada molécula de troponina C o calmodulina, y ambas moléculas tienen una masa molecular de 17 kDa.

El Ca^{2+} es fundamental en la regulación de la contracción muscular

La contracción de músculos de todas las fuentes ocurre mediante el mecanismo general antes descrito. Los músculos de diferentes organismos y de distintas células y tejidos dentro del mismo organismo pueden tener diferentes mecanismos moleculares que se encargan de regular su contracción y relajación. En todos los sistemas, el **Ca^{2+}** es un regulador clave. Hay dos mecanismos generales de **regulación** de la contracción muscular: **basada en actina** y **basada en miosina**. El primero opera en los músculos esquelético y cardiaco, y el segundo en el músculo liso.

La regulación basada en actina ocurre en el músculo estriado

La **regulación basada en actina** del músculo ocurre en los músculos esquelético y cardiaco de vertebrados, ambos estriados. En el mecanismo general antes descrito (figura 49-6), el único factor en potencia limitante en el ciclo de la contracción muscular podría ser el ATP. El sistema del músculo esquelético está **inhibido** en reposo; esta inhibición se suprime para activar la contracción. El inhibidor del músculo estriado es el **sistema de troponina**, que está unido a la tropomiosina y la actina F en el filamento delgado (figura 49-3). En el músculo estriado, no hay control de la contracción a menos que los sistemas de tropomiosina-troponina estén presentes junto con los filamentos de actina y miosina. Como se describió, la **tropomiosina** yace a lo largo del surco de la actina F, y los tres componentes de la **troponina** —TpT, TpI y TpC— están unidos al complejo de actina F-tropomiosina. La TpI evita la unión de la cabeza de miosina a su sitio de fijación a actina F al alterar la conformación de esta última por medio de las moléculas de tropomiosina, o al simplemente girar la tropomiosina hacia una posición que bloquea de manera directa los sitios en la actina F a los cuales se fijan las cabezas de miosina. Uno u otro método evita la activación de la ATPasa de la miosina que está mediada por unión de la cabeza de miosina a actina F. Por tanto, el sistema TpI bloquea el ciclo de contracción en el paso 2 de la figura 49-6. Esto explica el **estado inhibido** del músculo estriado relajado.

El retículo sarcoplásmico regula las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} en el músculo esquelético

En el sarcoplasma del músculo en reposo, la concentración de Ca^{2+} es de 10^{-8} a 10^{-7} mol/L. El estado de reposo se logra porque el Ca^{2+} se bombea hacia el retículo sarcoplásmico (SR) por medio de la acción de un sistema de transporte activo, llamado Ca^{2+} ATPasa (**figura 49-8**), lo que inicia la relajación. El SR es una red de sacos membranosos finos. Dentro del SR, el Ca^{2+} está unido a una proteína de unión a Ca^{2+} específica designada **calsecuestrina**. El sarcómero está rodeado por una membrana excitable (el sistema de túbulos T) compuesta de canales transversos (T) estrechamente relacionados con el SR.

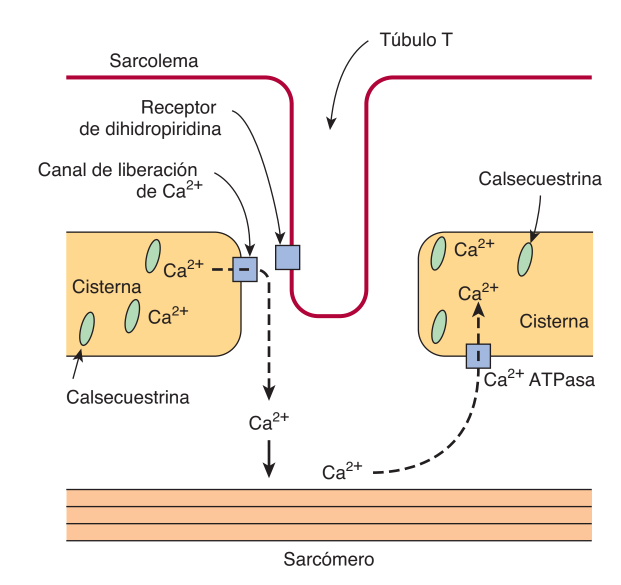


FIGURA 49–8 Diagrama de las relaciones entre sarcolema (membrana plasmática), un túbulo T, y dos cisternas del retículo sarcoplásmico (SR) de músculo esquelético (no a escala). El túbulo T se extiende hacia dentro del sarcolema. Una onda de despolarización, iniciada por un impulso nervioso, se transmite desde el sarcolema por el túbulo T. Después se retransmite hacia el canal de liberación de Ca^{2+} (receptor de rianodina), quizá por interacción con el receptor de dihidropiridina (canal de voltaje de Ca^{2+} lento), que se muestran en estrecha proximidad. La liberación de Ca^{2+} desde el canal de liberación de Ca^{2+} hacia el citosol inicia la contracción. Después, la Ca^{2+} ATPasa (bomba de Ca^{2+}) bombea de regreso el Ca^{2+} hacia las cisternas del retículo sarcoplásmico (SR) y se almacena ahí, unido en parte a calsecuestrina.

Cuando un **impulso nervioso** excita el sarcolema, la señal se transmite hacia un sistema de túbulos T y se abre un **canal de liberación de Ca^{2+}** en el SR cercano, lo que libera Ca^{2+} desde el SR hacia el sarcoplasma. La concentración de Ca^{2+} en el sarcoplasma aumenta rápidamente a 10^{-5} mol/L. El Ca^{2+} ocupa con rapidez los sitios de unión a Ca^{2+} en TpC en el filamento delgado. El TpC-4Ca^{2+} interactúa con TpI y TpT para alterar su interacción con la tropomiosina. En consecuencia, la tropomiosina se mueve hacia afuera del camino o altera la conformación de la actina F de modo que la cabeza de miosina-ADP-P_i (figura 49-6) puede interactuar con la actina F para empezar el ciclo de contracción.

El canal de liberación de Ca^{2+} también se conoce como **receptor de rianodina** (RYR). Hay dos isoformas de este receptor: RYR1 y RYR2; el primero está presente en el músculo esquelético, y el segundo en el músculo cardiaco y en el cerebro. La **rianodina** es un alcaloide vegetal que se une de manera específica a RYR1 y RYR2, y modula sus actividades. El canal de liberación de Ca^{2+} es un homotetrámero constituido de cuatro subunidades de 565 kDa. Tiene secuencias transmembrana en su carboxilo terminal, y éstas probablemente forman el canal de Ca^{2+}. El resto de la proteína sobresale hacia el citosol, y llena la brecha entre el SR y la membrana tubular transversa. El canal es activado por un ligando; el Ca^{2+} y el ATP trabajan de manera sinérgica *in vitro*, aunque no está claro cómo opera *in vivo*. En la **figura 49-9** se muestra una posible secuencia de eventos que

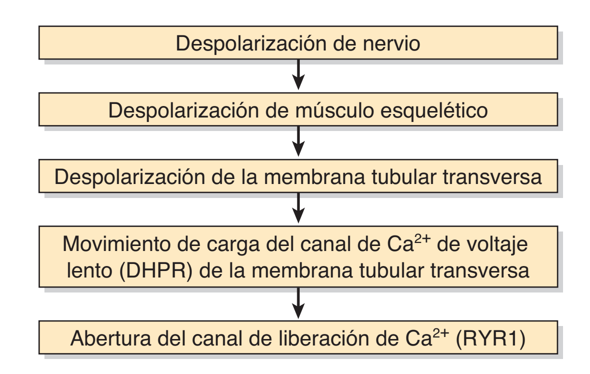


FIGURA 49–9 Posible cadena de eventos que conducen a la abertura del canal de liberación de Ca^{2+}. Como se indica en el texto, se ha mostrado que el canal de voltaje de Ca^{2+} y el canal de liberación de Ca^{2+} interactúan entre sí *in vitro* por medio de regiones específicas en sus cadenas de polipéptidos. (DHPR, receptor de dihidropiridina; RYR1, receptor de rianodina 1.)

llevan a la abertura del canal. El canal yace muy cerca del **receptor de dihidropiridina** (DHPR), un canal de Ca^{2+} lento, activado por voltaje) del sistema de túbulos transversos (figura 49-8). Experimentos *in vitro* en los que se emplea un método con cromatografía en columna de afinidad han indicado que un tramo de 37 aminoácidos en el RYR1 interactúa con un asa específica del DHPR.

La **relajación** ocurre cuando el Ca^{2+} sarcoplásmico cae por debajo de 10^{-7} mol/L debido a su resecuestro hacia el SR por la Ca^{2+} ATPasa. Así, el TpC-$4Ca^{2+}$ pierde su Ca^{2+}. Por tanto, la **troponina**, por medio de interacción con tropomiosina, **inhibe** la interacción adicional entre la cabeza de miosina y la actina F, y en presencia de ATP la cabeza de miosina se desprende de la actina F.

De este modo, el Ca^{2+} controla la contracción y relajación del músculo esquelético mediante un mecanismo alostérico mediado por TpC, TpI, TpT, tropomiosina y actina F.

Un **decremento** de la concentración de **ATP** en el sarcoplasma (p. ej., por uso excesivo durante el ciclo de contracción-relajación o por formación disminuida, como podría ocurrir en la isquemia) tiene dos efectos importantes: 1) la **Ca^{2+} ATPasa** (bomba de Ca^{2+}) en el SR deja de mantener la concentración baja de Ca^{2+} en el sarcoplasma. De esta manera, se promueve la interacción de las cabezas de miosina con actina F. 2) El **desprendimiento de cabezas de miosina**, dependiente de ATP, desde la actina F, no puede ocurrir, y surge rigidez (contractura). El estado de ***rigor mortis***, después de la muerte, es una extensión de estos eventos.

La contracción muscular es un delicado equilibrio dinámico de la fijación y el desprendimiento de cabezas de miosina a actina F, sujeto a regulación fina por medio del sistema nervioso.

En el **cuadro 49-1** se resumen los eventos generales en la contracción y relajación del músculo esquelético.

Las mutaciones en el gen que codifica para el canal de liberación de Ca^{2+} son una causa de hipertermia maligna humana

Algunos pacientes que tienen predisposición genética experimentan una reacción grave, designada **hipertermia maligna**, cuando quedan expuestos a ciertos anestésicos (p. ej., halotano) y relajantes del músculo esquelético despolarizantes (p. ej., succinilcolina). La reacción consta principalmente de rigidez de los músculos esqueléticos, hipermetabolismo y fiebre alta. Una **concentración citosólica alta de Ca^{2+}** en el músculo esquelético es un factor importante en su causa. A menos que la hipertermia maligna se reconozca y trate de inmediato, los pacientes pueden morir de manera aguda por fibrilación ventricular, o sobrevivir para sucumbir después por otras complicaciones serias. El tratamiento apropiado consta de suspender el anestésico y administrar el fármaco **dantroleno** por vía intravenosa. El dantroleno es un relajante del músculo esquelético que actúa para inhibir la liberación de Ca^{2+} desde el SR hacia el citosol, lo que evita el aumento del Ca^{2+} citosólico que se encuentra en la hipertermia maligna (MH).

La MH también ocurre en **cerdos**. Los animales homocigotos para MH susceptibles muestran respuesta al estrés con una reacción mortal (**síndrome de estrés porcino**) similar a la que se observa en los seres humanos. Si la reacción ocurre antes de la matanza, afecta de manera adversa la calidad de la carne, lo que da por resultado un producto inferior. Ambos eventos puedan dar por resultado considerables pérdidas económicas para la industria porcina.

Una concentración alta de Ca^{2+} citosólico en el músculo en sujetos con MH sugirió que la enfermedad podría producirse por anormalidades en la Ca^{2+} ATPasa o del **canal de liberación de Ca^{2+}**. No se detectaron anormalidades en la primera, pero la secuenciación de cDNA para la segunda proteína proporcionó

CUADRO 49–1 Secuencia de eventos en la contracción y relajación del músculo esquelético

Pasos en la contracción
1. Descarga de neurona motora.
2. Liberación de transmisor (acetilcolina) en la placa terminal.
3. Unión de acetilcolina a receptores de acetilcolina nicotínicos.
4. Conductancia del Na^+ y K^+ aumentada en la membrana de la placa terminal.
5. Generación del potencial de placa terminal.
6. Generación del potencial de acción en fibras musculares.
7. Diseminación hacia adentro de despolarización a lo largo de túbulos T.
8. Liberación de Ca^{2+} desde cisternas terminales del retículo sarcoplásmico y difusión hacia filamentos gruesos y delgados.
9. Unión de Ca^{2+} a troponina C, lo que descubre sitios de unión a miosina, de la actina.
10. Formación de enlaces cruzados entre actina y miosina, y deslizamiento de filamentos delgados sobre gruesos, lo que produce acortamiento.
Pasos en la relajación
1. Ca^{2+} bombeado de regreso hacia el retículo sarcoplásmico.
2. Liberación de Ca^{2+} desde la troponina.
3. Cese de la interacción entre la actina y miosina.

Fuente: Reproducido, con autorización, de Ganong WF: *Review of Medical Physiology*, 21st ed. McGraw-Hill, 2003.

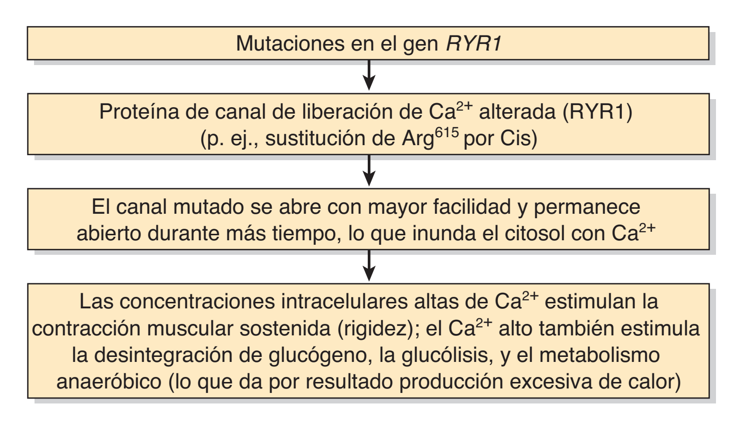


FIGURA 49–10 Esquema simplificado de la causa de la hipertermia maligna (OMIM 145600). Se han detectado muchas mutaciones puntuales diferentes en el gen *RYR1,* algunas de las cuales se relacionan con miopatía congénita de corpúsculos centrales (OMIM 117000). Se estima que al menos 50% de las familias con miembros que tienen hipertermia maligna está enlazado al gen *RYR1*. Asimismo, se han detectado algunos individuos con mutaciones en el gen que codifica para DHPR; posiblemente también se encontrarán mutaciones en otros genes que codifican para proteínas involucradas en ciertos aspectos del metabolismo muscular.

información, particularmente en cerdos. Todos los cDNA de **cerdos** con MH examinados hasta ahora, han mostrado una sustitución de C1843 por T, lo que da por resultado la sustitución de Arg^{615} por Cis en el canal de liberación de Ca^{2+}. La mutación afecta la función del canal por cuanto se abre con mayor facilidad y permanece abierto durante más tiempo; el resultado neto es liberación masiva de Ca^{2+} hacia el citosol, lo que finalmente causa contracción muscular sostenida.

El cuadro es más complejo en **seres humanos**, puesto que la MH muestra **heterogeneidad genética**. Los miembros de varias familias que sufren hipertermia maligna no han mostrado enlace genético con el gen *RYR1*. Se ha encontrado que algunos seres humanos susceptibles a MH muestran la misma mutación que se encuentra en cerdos, y otros tienen diversas mutaciones puntuales en diferentes *loci* del gen *RYR1*. Se ha hallado que ciertas familias con MH tienen mutaciones que afectan el **DHPR**. Es posible que las mutaciones que afectan otras proteínas musculares, como la **calsecuestrina-1**, una proteína de unión a Ca^{2+} del SR que modula la función de RyR1, también cause MH. En la **figura 49-10** se resume la probable cadena de eventos en la hipertermia maligna. La principal promesa de estos datos es que, una vez que se detecten mutaciones adicionales, será posible la **detección**, usando sondas de DNA idóneas, de individuos en riesgo de presentar MH durante anestesia. Las pruebas de detección actuales (p. ej., la prueba de cafeína-halotano *in vitro*) son relativamente poco fiables. Entonces podrían administrarse a los afectados **anestésicos alternativos**, que no pondrían en peligro su vida. También debe ser posible, si se desea, eliminar la MH de poblaciones de cerdos usando prácticas de cría idóneas.

Otra enfermedad debida a mutaciones en el gen *RYR1* es la **miopatía congénita de corpúsculos centrales**. Ésta es una miopatía rara que se presenta durante la lactancia, con hipotonía y debilidad de músculos proximales. La microscopia electrónica revela falta de mitocondrias en el centro de muchas fibras musculares tipo I (véase más adelante). Los datos morfológicos parecen depender de daño de las mitocondrias inducido por concentraciones intracelulares altas de Ca^{2+} consecutivas a funcionamiento anormal de *RYR1*.

CUADRO 49-2 Algunas otras proteínas importantes del músculo

Proteína	Ubicación	Comentario o función
Titina	Abarca desde la línea Z hasta la línea M	La proteína de mayor tamaño en el organismo. Participa en la relajación del músculo.
Nebulina	Desde la línea Z a lo largo de filamentos de actina	Quizá regule el montaje y la longitud de filamentos de actina.
α-Actinina	Fija la actina a líneas Z	Estabiliza filamentos de actina.
Desmina	Yace a lo largo de filamentos de actina	Se fija a la membrana plasmática (plasmalema).
Distrofina	Fija al plasmalema	Deficiente en la distrofia muscular de Duchenne. Las mutaciones de este gen también pueden causar miocardiopatía dilatada.
Calcineurina	Citosol	Una proteína fosfatasa regulada por calmodulina. Puede tener importancia en la hipertrofia cardiaca y en la regulación de cantidades de músculos de contracción lenta y rápida.
Proteína C de unión a miosina	Dispuesta de manera transversal en las bandas A del sarcómero	Se une a la miosina y titina. Participa en el mantenimiento de la integridad estructural del sarcómero.

LAS MUTACIONES EN EL GEN QUE CODIFICA PARA DISTROFINA CAUSAN DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE

Varias **proteínas adicionales** desempeñan diversas funciones en la estructura y función del músculo. Incluyen titina (la proteína de mayor tamaño conocida), nebulina, α-actinina, desmina, distrofina y calcineurina. En el **cuadro 49-2** se resumen algunas propiedades de estas proteínas.

La **distrofina** despierta especial interés. Como se comenta en el caso número 9 del capítulo 57, se ha mostrado que las mutaciones en el gen que codifica para esta proteína son la causa de la **distrofia muscular de Duchenne**, y de la más leve **distrofia muscular de Becker**. También quedan implicadas en algunos casos de **miocardiopatía dilatada** (véase más adelante). La distrofina forma parte de un complejo grande de proteínas que se fijan al plasmalema o que interactúan con el mismo (**figura 49-11**). La distrofina enlaza el citoesqueleto de la actina a la ECM, y parece ser necesaria para el montaje de la unión sináptica. Se cree que el deterioro de estos procesos por formación de distrofina defectuosa es crucial en la causa de la distrofia muscular de Duchenne. Las mutaciones en los genes que codifican

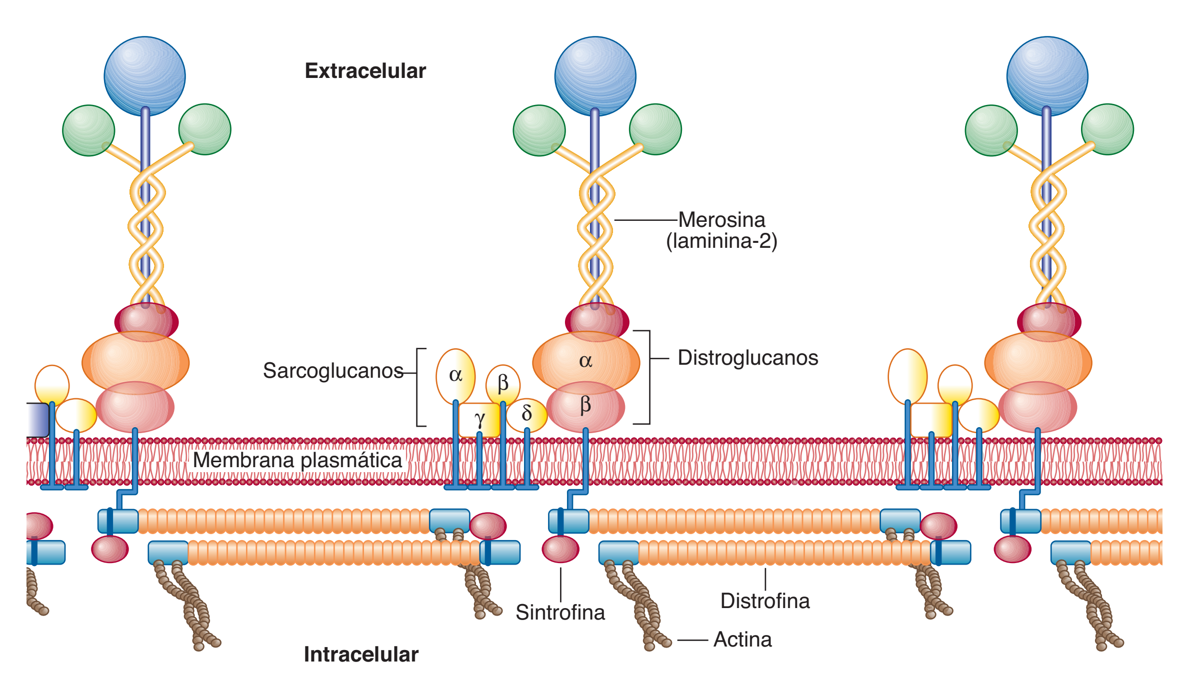


FIGURA 49-11 Organización de la distrofina y otras proteínas en relación con la membrana plasmática de células musculares. La distrofina forma parte de un complejo oligomérico grande asociado con varios otros complejos proteínicos. El complejo de distroglucano consta de un α-distroglucano, que se asocia con la proteína de la lámina basal merosina (también llamada laminina-2, véase cap. 48) y α-distroglucano, que une α-distroglucano y distrofina. La sintrofina se une al carboxilo terminal de la distrofina. El complejo sarcoglucano consta de cuatro proteínas transmembrana: α, β, y γ de sarcoglucano. No están claras la función del complejo de sarcoglucano ni la naturaleza de las interacciones dentro del complejo y entre este último y los otros complejos. El complejo de sarcoglucano sólo se forma en el músculo estriado, y sus subunidades se asocian de preferencia entre sí, lo que sugiere que el complejo quizá funcione como una unidad única. Las mutaciones en el gen que codifica para distrofina causan distrofias muscular de Duchenne y de Becker. Se ha mostrado que las mutaciones en los genes que codifican para los diversos sarcoglucanos son la causa de distrofias de las cinturas escapular o pélvica (p. ej., OMIM 604286), y las mutaciones en genes que codifican para otras proteínas musculares causan otros tipos de distrofia muscular. Las mutaciones en genes que codifican para ciertas glucosiltransferasas involucradas en las síntesis de las cadenas de glucano del α-distroglucano son la causa de ciertas distrofias musculares congénitas (cap. 47). (Reproducida, con autorización, de Duggan DJ *et al*.: Mutations in the sarcoglycan genes in patients with myopathy. N Engl J Med 1997;336:618. Copyright © 1997 Massachusetts Medical Society. Todos los derechos reservados.)

para algunos de los componentes del **complejo de sarcoglucano** (figura 49-11) son la causa de **distrofia muscular de la cintura escapulohumeral o pélvica**, y de algunas **otras formas congénitas** de distrofia muscular.

Se ha encontrado que las mutaciones en genes que codifican para **varias glucosiltransferasas** involucradas en la síntesis de las cadenas de azúcar del **α-distroglucano** son la causa de ciertos tipos de **distrofia muscular congénita** (cap. 47).

EL MÚSCULO CARDIACO SE PARECE AL MÚSCULO ESQUELÉTICO EN MUCHOS ASPECTOS

El cuadro general de la contracción muscular en el corazón semeja el de la contracción del músculo esquelético. El músculo cardiaco, al igual que el esquelético, es **estriado**, y usa el sistema de actina-miosina-tropomiosina-troponina antes descrito. Al contrario del músculo esquelético, el músculo cardiaco muestra **ritmicidad intrínseca**, y miocitos individuales se comunican entre sí debido a su naturaleza sincitial. El **sistema tubular T** está más desarrollado en el músculo cardiaco, mientras que el **SR** es menos extenso, y por consiguiente el aporte intracelular de Ca^{2+} para la contracción es menor. Así, la contracción del músculo cardiaco depende del **Ca^{2+} extracelular**; si el músculo cardiaco aislado queda privado de Ca^{2+}, deja de latir en el transcurso de aproximadamente 1 min, mientras que el músculo esquelético puede seguir contrayéndose durante un periodo más prolongado sin una fuente extracelular de Ca^{2+}. El **AMP cíclico** desempeña una función más notoria en el músculo cardiaco que en el esquelético. Modula las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} por medio de la activación de proteína cinasas; estas enzimas fosforilan diversas proteínas de transporte en el sarcolema y el SR, y en el complejo regulador de troponina-tropomiosina, lo que afecta las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} o las respuestas a las mismas. Hay una correlación gruesa entre la fosforilación de TpI y la contracción aumentada del músculo cardiaco inducida por catecolaminas. Esto puede explicar los **efectos inotrópicos** (contractilidad aumentada) de los compuestos β-adrenérgicos sobre el corazón. En el **cuadro 49-3** se resumen algunas diferencias entre los músculos esquelético, cardiaco y liso.

El Ca^{2+} entra a los miocitos mediante canales de Ca^{2+}, y los abandona por medio del intercambiador de Na^+-Ca^{2+} y la Ca^{2+} ATPasa

Como se mencionó, el **Ca^{2+} extracelular** desempeña una función importante en la contracción del músculo cardiaco, no así en la del esquelético. Esto significa que el Ca^{2+} entra a los miocitos y sale

CUADRO 49–3 Algunas diferencias entre músculos esquelético, cardiaco y liso

Músculo esquelético	Músculo cardiaco	Músculo liso
1. Estriado.	**1.** Estriado.	**1.** No estriado.
2. No tiene sincitio.	**2.** Sincitial.	**2.** Sincitial.
3. Túbulos T pequeños.	**3.** Túbulos T grandes.	**3.** Por lo general túbulos T rudimentarios.
4. Retículo sarcoplásmico bien desarrollado y la bomba de Ca^{2+} actúa con rapidez.	**4.** El retículo sarcoplásmico está presente y la bomba de Ca^{2+} actúa con relativa rapidez.	**4.** Retículo sarcoplásmico a menudo rudimentario y la bomba de Ca^{2+} actúa con lentitud.
5. El plasmalema carece de muchos receptores de hormona.	**5.** El plasmalema contiene diversos receptores (p. ej., α- y β-adrenérgicos).	**5.** El plasmalema contiene diversos receptores (p. ej., α- y β-adrenérgicos).
6. El impulso nervioso inicia la contracción.	**6.** Tiene ritmicidad intrínseca.	**6.** Contracción iniciada por impulsos nerviosos, hormonas, etcétera.
7. El Ca^{2+} en el líquido extracelular no es importante para la contracción.	**7.** El Ca^{2+} en el líquido extracelular es importante para la contracción.	**7.** El Ca^{2+} en el líquido extracelular es importante para la contracción.
8. Sistema de troponina presente.	**8.** Sistema de troponina presente.	**8.** Carece de sistema de troponina; usa la cabeza de miosina reguladora.
9. No participa la caldesmona.	**9.** La caldesmona no participa.	**9.** La caldesmona es una importante proteína reguladora.
10. Paso de los puentes transversales por ciclos muy rápidos.	**10.** Paso de los puentes transversales por ciclos relativamente rápidos.	**10.** El paso de los puentes transversales por ciclos lentos permite contracción lenta y prolongada, y menos utilización de ATP.

de los mismos de una manera regulada. Se considerarán brevemente tres proteínas transmembrana que participan en este proceso.

Canales de Ca^{2+}

El Ca^{2+} entra en los miocitos por medio de estos canales, que permiten la entrada sólo de iones de Ca^{2+}. La principal puerta de entrada es el tipo L (corriente de larga duración, conductancia grande) o canal de **Ca^{2+} lento**, que es activado por voltaje, se abre durante despolarización inducida por propagación del potencial de acción cardiaco, y se cierra cuando el potencial de acción declina. Estos canales son equivalentes a los receptores de dihidropiridina del músculo esquelético (figura 49-8). Los canales de Ca^{2+} lentos están **regulados** por proteína cinasas dependientes de cAMP (estimuladoras) y cGMP-proteína cinasas (inhibidoras), y quedan bloqueados por los llamados bloqueadores de los canales de calcio (p. ej., verapamilo). Los canales de Ca^{2+} **rápidos** (o T, transitorios) también están presentes en el plasmalema, aunque en números mucho menores; probablemente contribuyen a la fase temprana del incremento del Ca^{2+} mioplásmico.

El aumento resultante del Ca^{2+} en el mioplasma actúa sobre el canal de liberación de Ca^{2+} del SR para abrirlo. Esto se llama **liberación de Ca^{2+} inducida por Ca^{2+}** (CICR). Se estima que alrededor de 10% del Ca^{2+} involucrado en la contracción entra en el citosol desde el líquido extracelular, y 90% desde el SR. Empero, el primer 10% es importante, puesto que el índice de aumento de Ca^{2+} en el mioplasma es importante, y la entrada por medio de los canales de Ca^{2+} contribuye de manera apreciable a esto.

Intercambiador de Ca^{2+}-Na^+

Se trata de la principal ruta de **salida** de Ca^{2+} desde los miocitos. En miocitos en reposo, ayuda a mantener una concentración baja de Ca^{2+} intracelular libre al intercambiar un Ca^{2+} por tres Na^+. La energía para el movimiento torrente arriba de Ca^{2+} hacia afuera de la célula proviene del movimiento torrente abajo de Na^+ hacia la célula desde el plasma. Este intercambio contribuye a la relajación, pero puede correr en la dirección inversa durante la excitación. Debido al intercambiador de Ca^{2+}-Na^+, cualquier cosa que cause aumento del Na^+ intracelular (Na^+_i) ocasionará de manera secundaria aumento del Ca^{2+}_i, lo que origina contracción más enérgica. Esto se denomina **efecto inotrópico positivo**. Un ejemplo es cuando el fármaco **digital** se usa para tratar insuficiencia cardiaca. La digital inhibe la Na^+-K^+ ATPasa sarcolémica, lo que disminuye la salida de Na^+ y, así, aumenta el Na^+_i. Esto a su vez causa incremento del Ca^{2+}, por medio del intercambiador de Ca^{2+}-Na^+. El Ca^{2+}_i aumentado suscita incremento de las fuerzas de la contracción cardiaca (**figura 49-12**), que resulta beneficioso en personas con insuficiencia cardiaca.

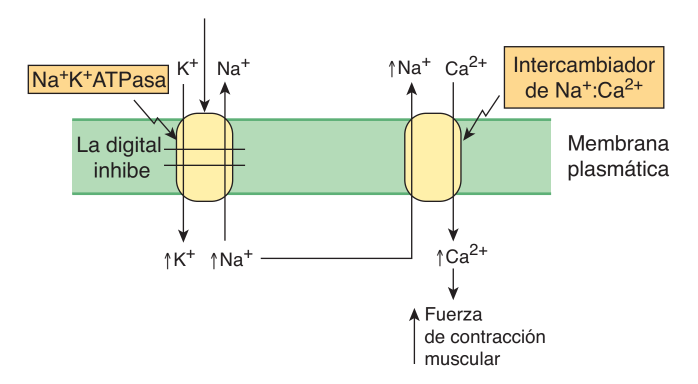


FIGURA 49–12 Esquema de la manera en que el fármaco digital (usado en el tratamiento de ciertos casos de insuficiencia cardiaca) aumenta la contracción cardiaca. La digital inhibe la Na^+-K^+ ATPasa (cap. 40). Esto da por resultado bombeo de menos Na^+ hacia afuera del miocito cardiaco, y lleva a un incremento de la concentración intracelular de Na^+. A su vez, esto estimula al intercambiador de Na^+-Ca^{2+}, de modo que más Na^+ se intercambia hacia afuera, y más Ca^{2+} entra al miocito. La concentración intracelular aumentada resultante de Ca^{2+} incrementa la fuerza de la contracción muscular.

CUADRO 49-4 Principales tipos de canales de ion encontrados en las células

Tipo	Comentario
Activado por ligando externo	Se abre en respuesta a una molécula extracelular específica, p. ej., acetilcolina.
Activado por ligando interno	Se abre o cierra en respuesta a una molécula intracelular específica, p. ej., un nucleótido cíclico.
Activado por voltaje	Se abre en respuesta a un cambio del potencial de membrana, p. ej., canales de Na^+, K^+ y Ca^{2+} en el corazón.
Activado mecánicamente	Se abre en respuesta al cambio de la presión mecánica.

Ca^{2+} ATPasa

Esta bomba de Ca^{2+}, situada en el sarcolema, también contribuye a la salida de **Ca^{2+}**, pero se cree que tiene un papel relativamente menor en comparación con el intercambiador de Ca^{2+}-Na^+.

Cabe hacer notar que hay diversos **canales de ion** (cap. 40) en casi todas las células, para Na^+, K^+, Ca^{2+}, etc. Muchos de ellos se han clonado durante los últimos años, y se ha determinado su disposición en sus membranas respectivas (número de veces que cada uno cruza su membrana, ubicación del sitio de transporte de ion real en la proteína, etc.). Pueden clasificarse como se indica en el **cuadro 49-4**. El músculo cardiaco tiene alto contenido de canales de ion, y estos últimos también tienen importancia en el músculo esquelético. Se ha mostrado que las mutaciones de los genes que codifican para canales de ion causan varias enfermedades relativamente raras que afectan el músculo. Estas y otras enfermedades debidas a mutaciones de canales de ion se han llamado **canalopatías**; algunas se listan en el **cuadro 49-5**.

Las miocardiopatías hereditarias se deben a trastornos del metabolismo de energía cardiaco o a proteínas miocárdicas anormales

Una **miocardiopatía hereditaria** es cualquier anormalidad estructural o funcional del miocardio ventricular debida a una causa hereditaria. Hay tipos de miocardiopatía no hereditarios, pero no se describirán aquí. Las causas de las miocardiopatías hereditarias caen dentro de dos clases amplias (**cuadro 49-6**): 1) trastornos del **metabolismo de energía cardiaco**, que reflejan principalmente mutaciones en genes que codifican para enzimas o proteínas involucradas en la oxidación de ácidos grasos (una importante fuente de energía para el miocardio) y la fosforilación oxidativa, y 2) mutaciones en genes que codifican para proteínas que participan en la **contracción miocárdica** o que la **afectan**, como la miosina, tropomiosina, las troponinas, y la proteína C de unión a miosina cardiaca. Las mutaciones en los genes que codifican para estas últimas proteínas causan miocardiopatía hipertrófica familiar, que se comentará a continuación.

CUADRO 49-5 Algunos trastornos (canalopatías) debidos a mutaciones en genes que codifican para polipéptidos constituyentes de canales de ion

Trastorno[1]	Canal de ion y principales órganos afectados
Miopatía congénita de corpúsculos centrales (OMIM 117000)	Canal de liberación de Ca^{2+} (RYR1) Músculo esquelético
Parálisis periódica hiperpotasémica (OMIM 170500)	Canal de sodio Músculo esquelético
Parálisis periódica hipopotasémica (OMIM 170400)	Canal de Ca^{2+} de voltaje lento (DHPR) Músculo esquelético
Hipertermia maligna (OMIM 145600)	Canal de liberación de Ca^{2+} (RYR1) Músculo esquelético
Miotonía congénita (OMIM 160800)	Canal de cloruro Músculo esquelético

Fuente: Datos en parte de Ackerman NJ, Clapham DE: Ion channels—basic science and clinical disease. N Engl J Med 1997;336:1575.
[1] Otras canalopatías incluyen el síndrome de QT largo (OMIM 192500); seudoaldosteronismo (síndrome de Liddle, OMIM 177200); hipoglucemia hiperinsulinémica persistente de la lactancia (OMIM 601820); nefrolitiasis tipo II recesiva ligada a X hereditaria, de la lactancia (síndrome de Dent, OMIM 300009), y miotonía generalizada, recesiva (enfermedad de Becker, OMIM 255700). El término "miotonía" significa cualquier enfermedad en la cual los músculos no se relajan tras la contracción.

Las mutaciones en el gen que codifica para la cadena pesada de la β-miosina cardiaca son una causa de miocardiopatía hipertrófica familiar

La miocardiopatía hipertrófica familiar es una de las enfermedades cardiacas hereditarias más frecuentes. Los pacientes muestran hipertrofia —a menudo masiva— de uno o ambos ventrículos, que empieza en etapas tempranas de la vida, y no se relaciona con alguna causa extrínseca, como hipertensión. La mayor parte de los casos se transmite de una manera autosómica dominante; el resto es esporádico. Hasta hace poco, su causa era oscura. Con todo, esta situación cambió cuando los estudios de

CUADRO 49–6 Causas bioquímicas de miocardiopatías hereditarias[1]

Causa	Proteínas o proceso afectados
Errores congénitos de la oxidación de ácidos grasos	Entrada de carnitina hacia las células y mitocondrias
	Ciertas enzimas de la oxidación de ácidos grasos
Trastornos de la fosforilación oxidativa mitocondrial	Proteínas codificadas por genes mitocondriales
	Proteínas codificadas por genes nucleares
Anormalidades de proteínas contráctiles y estructurales miocárdicas	Cadenas pesadas de β-miosina, troponina, tropomiosina, distrofina

Fuente: Basado en Kelly DP, Strauss AW: Inherited cardiomyopathies. N Engl J Med 1994;330:913.
[1] Las mutaciones (p. ej., mutaciones puntuales, o en algunos casos deleciones) en los genes (nucleares o mitocondriales) que codifican para diversas proteínas, enzimas, o moléculas de tRNA, son las causas fundamentales de las miocardiopatías hereditarias. Algunas enfermedades son leves, mientras que otras son graves y pueden formar parte de un síndrome que afecta a otros tejidos.

una familia afectada mostraron que la enfermedad dependía de una **mutación sin sentido** (esto es, sustitución de un aminoácido por otro) en el gen que codifica para **cadena pesada de β-miosina**. Estudios subsiguientes han mostrado varias mutaciones sin sentido en este gen, todas las cuales codifican para residuos muy conservados. Algunos individuos han mostrado otras mutaciones, como la formación de un gen híbrido que codifica para cadena pesada de α/β-miosina. Los pacientes con miocardiopatía hipertrófica familiar pueden mostrar gran variación del cuadro clínico; esto refleja en parte la **heterogeneidad genética**; esto es, la mutación en varios **otros genes** (p. ej., los que codifican para actina cardiaca, tropomiosina, troponinas cardiacas I y T, cadenas ligeras de miosina esenciales y reguladoras, proteína C de unión a miosina cardiaca, titina, y tRNA-glicina y tRNA-isoleucina mitocondriales) también puede causar miocardiopatía hipertrófica familiar. Además, las mutaciones en diferentes sitios en el gen que codifica para cadena pesada de β-miosina pueden afectar en mayor o menor grado la función de la proteína. Las mutaciones sin sentido están agrupadas en las regiones de la cabeza y de cabeza-varilla de la cadena pesada de miosina. Una hipótesis es que los polipéptidos mutantes ("polipéptidos veneno") causan formación de miofibrillas anormales, lo que finalmente da por resultado hipertrofia compensadora. Algunas mutaciones alteran la **carga** del aminoácido (p. ej., sustitución de glutamina por arginina), lo que quizá afecta de manera más notoria la **conformación** de la proteína y, así, altera su función. En pacientes que tienen estas mutaciones la esperanza de vida es significativamente más breve que en aquellos en quienes la mutación no produjo alteración de la carga. De este modo, quizá resulte que la definición de las mutaciones precisas involucradas en la génesis de FHC tenga utilidad pronóstica importante; puede lograrse mediante el uso apropiado de la reacción en cadena de polimerasa en DNA genómico obtenido a partir de una muestra de linfocitos sanguíneos. La **figura 49-13** es un esquema simplificado de los eventos que causan miocardiopatía hipertrófica familiar.

Otro tipo de miocardiopatía se denomina **miocardiopatía dilatada**. Las mutaciones en los genes que codifican para distrofina, proteína LIM muscular (así llamada porque se encontró que contiene un dominio con alto contenido de cisteína originalmente detectado en tres proteínas: Lin-II, Isl-1 y Mec-3), la proteína de unión a elemento de respuesta cíclica (CREB), desmina y lámina, han quedado implicadas en la causa de esta enfermedad. Las primeras dos proteínas ayudan a organizar el aparato contráctil de las células de músculo cardiaco, y la CREB participa en la regulación de varios genes de estas células. La investigación actual no sólo está elucidando las causas moleculares de las miocardiopatías, sino que también está revelando mutaciones que causan **trastornos del desarrollo cardiaco** (p. ej., defecto de tabique) y **arritmias** (p. ej., debidas a mutación que afecta canales de ion).

Predominantemente mutaciones sin sentido en el gen que codifica para cadenas pesadas de β-miosina en el cromosoma 14
↓
Cadenas de polipéptido mutantes ("polipéptidos veneno") pueden llevar a la formación de miofibrillas defectuosas
↓
Hipertrofia compensadora de uno o ambos ventrículos cardiacos
↓
Cardiomegalia y diversos signos y síntomas cardiacos, incluso muerte repentina

FIGURA 49–13 Esquema simplificado de la causa de la miocardiopatía hipertrófica familiar (OMIM 192600) debido a mutaciones del gen que codifica para la cadena pesada de β-miosina. Esta enfermedad también puede depender de mutaciones en genes que codifican para otras proteínas (véase el texto).

El Ca^{2+} también regula la contracción del músculo liso

Si bien todos los músculos contienen actina, miosina y tropomiosina, sólo los músculos **estriados** de vertebrados contienen el **sistema de troponina**. De esta manera, los mecanismos que regulan la contracción deben diferir en diversos sistemas contráctiles.

El **músculo liso** tiene estructura molecular similar a la del estriado, pero los sarcómeros no están alineados de modo que generen el aspecto estriado. El músculo liso contiene moléculas de α-actinina y tropomiosina, como el esquelético. El músculo liso **carece del sistema de troponina**, y las cadenas ligeras de las moléculas de miosina del músculo liso difieren de las de la miosina del estriado. La regulación de la contracción del músculo liso está **basada en miosina**, a diferencia de la del músculo estriado, que está basada en actina. Aun así, al igual que el músculo estriado, la contracción del músculo liso está **regulada por Ca^{2+}**.

La fosforilación de cadenas ligeras de miosina inicia la contracción del músculo liso

Cuando la miosina del músculo liso se une a actina F en ausencia de otras proteínas musculares como la tropomiosina, **no hay actividad de ATPasa detectable**. Esta ausencia de actividad es bastante poco semejante a la situación descrita para la miosina y la actina F del músculo estriado, que tiene abundante actividad de ATPasa. La miosina del músculo liso contiene **cadenas ligeras** que evitan la unión de la cabeza de miosina a actina F; se **deben fosforilar** antes de que permitan que la actina F active a la ATPasa de miosina. La actividad de ATPasa entonces alcanzada hidroliza el ATP unas 10 veces más lentamente que la actividad correspondiente en el músculo esquelético. El fosfato en las cadenas ligeras de miosina puede formar un quelado con el Ca^{2+} unido al complejo de tropomiosina-TpC-actina, lo que lleva a un índice aumentado de formación de puentes transversales entre las cabezas de miosina y la actina. La fosforilación de cadenas ligeras **inicia** el ciclo de contracción del músculo liso con fijación-desprendimiento.

La cinasa de cadena ligera de miosina se activa por calmodulina-4Ca^{2+}, y después fosforila las cadenas ligeras

El sarcoplasma del músculo liso contiene una **cinasa de cadena ligera de miosina**, dependiente del calcio. La activación de la cinasa de cadena ligera de miosina por el Ca^{2+} requiere unión de **calmodulina-4Ca^{2+}** a su subunidad cinasa (**figura 49-14**). La

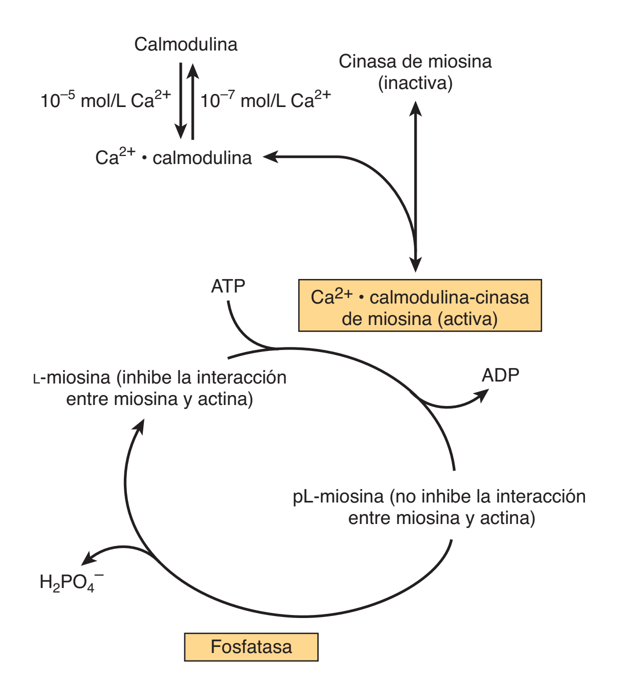


FIGURA 49–14 Regulación de la contracción del músculo liso por Ca^{2+}. La pL-miosina es la cadena ligera fosforilada de la miosina; la L-miosina es la cadena ligera desfosforilada. (Adaptada, con autorización, de Adelstein RS, Eisenberg R: Regulation and kinetics of actin-myosin ATP interaction. Annu Rev Biochem 1980;49:921. Copyright © 1980 por Annual Reviews, www.annualreviews.org)

cinasa de cadena ligera activada por calmodulina-$4Ca^{2+}$ fosforila las cadenas ligeras, que después dejan de inhibir la interacción entre miosina y actina F. Entonces empieza el ciclo de contracción.

En el músculo liso hay otra vía no dependiente de Ca^{2+} para iniciar la contracción, la cual comprende **Rho cinasa**, que es activada por diversos estímulos (que no se muestran en la figura 49-14). Esta enzima fosforila a la fosfatasa de cadena ligera de miosina, lo que la inhibe y, así, aumenta la fosforilación de la cadena ligera. La Rho cinasa también fosforila de modo directo la cadena ligera de miosina. Estas dos acciones aumentan la contracción del músculo liso.

El músculo liso se relaja cuando la concentración de Ca^{2+} cae por debajo de 10^{-7} molar

El músculo liso se relaja cuando el Ca^{2+} sarcoplásmico cae por debajo de 10^{-7} mol/L. El **Ca^{2+}** se disocia de la calmodulina que, a su vez, se disocia de la cinasa de cadena ligera de miosina, lo que inactiva la cinasa. No se fijan nuevos fosfatos a la cadena ligera p, y la **proteína fosfatasa de cadena ligera**, que es continuamente activa, e independiente del calcio, elimina de las cadenas ligeras los fosfatos existentes. La cadena ligera p de miosina desfosforilada a continuación inhibe la unión de cabezas de miosina a actina F y la actividad de ATPasa. La cabeza de miosina se desprende de la actina F en presencia de ATP, pero no puede volver a fijarse debido a la presencia de cadena ligera p desfosforilada; por consiguiente, ocurre **relajación**.

En el **cuadro 49-7** se resume y compara la regulación de las interacciones entre actina y miosina (activación de la ATPasa de miosina) en músculos estriado y liso.

El **cAMP** no afecta o activa de manera directa la cinasa de cadena ligera de miosina. De cualquier modo, la proteína cinasa activada por cAMP puede fosforilar a la cinasa de cadena ligera de miosina (no las cadenas ligeras en sí). La cinasa de cadena ligera de miosina fosforilada muestra una afinidad significativamente menor por calmodulina-Ca^{2+} y, así, es menos sensible a activación. En consecuencia, un **aumento del cAMP disminuye la respuesta de contracción** del músculo liso a un aumento dado del Ca^{2+} sarcoplásmico. Este mecanismo molecular puede explicar el efecto relajante de la estimulación β-adrenérgica sobre el músculo liso.

Otra proteína que parece desempeñar una función dependiente de Ca^{2+} en la regulación de la contracción del músculo liso es la **caldesmona** (87 kDa). Esta proteína es omnipresente

CUADRO 49–7 Interacciones entre actina y miosina en los músculos estriado y liso

	Músculo estriado	Músculo liso (y células no musculares)
Proteínas de filamentos musculares	Actina Miosina[1] Tropomiosina Troponina (Tpl, TpT, TpC)	Actina Miosina[1] Tropomiosina
Interacción espontánea de actina F y miosina solas (activación espontánea de la ATPasa de miosina por la actina F)	Sí	No
Inhibidor de la interacción entre actina F y miosina (activación de ATPasa dependiente de inhibidor de actina F)	Sistema de troponina (Tpl)	Cadena ligera de miosina no fosforilada
Contracción activada por	Ca^2	Ca^{2+}
Efecto directo del Ca^{2+}	$4Ca^{2+}$ se une a TpC	$4Ca^{2+}$ se une a calmodulina
Efecto de Ca^{2+} unido a proteína	TpC · $4Ca^{2+}$ antagoniza la inhibición de la interacción entre actina F y miosina por Tpl (permite la activación de ATPasa por la actina F)	La calmodulina $4Ca^{2+}$ activa a la cadena ligera de miosina cinasa que fosforila la cadena ligera p de miosina. La cadena ligera p fosforilada ya no inhibe la interacción entre actina F y miosina (permite la activación de ATPasa por la actina F)

[1] Las cadenas ligeras de miosina son diferentes en los músculos liso y estriado.

en el músculo liso y se encuentra también en tejido que no es músculo. A concentraciones bajas de Ca^{2+}, se une a la tropomiosina y actina. Esto **evita la interacción de la actina con la miosina**, y mantiene el músculo en un estado relajado. A concentraciones más altas de Ca^{2+}, la Ca^{2+}-calmodulina se une a la caldesmona, **lo que la libera de la actina**. Esta última a continuación está libre para unirse a la miosina, y puede ocurrir contracción. La caldesmona también está sujeta a fosforilación-desfosforilación; cuando está fosforilada, no puede unirse a la actina, lo que de nuevo libera a esta última para interactuar con la miosina. La caldesmona quizá también participe en la organización de la estructura del aparato contráctil en el músculo liso. Muchos de sus efectos se han demostrado *in vitro,* y aún se está investigando su importancia fisiológica.

El ingreso a ciclos lentos de los puentes transversales permite la contracción prolongada del músculo liso (p. ej., en vísceras y vasos sanguíneos) con menos utilización de ATP en comparación con el músculo estriado (cuadro 49-3). La capacidad del músculo liso para mantener fuerza a velocidades de contracción reducidas se denomina **estado de pestillo**; ésta es una característica importante del músculo liso, y su base molecular precisa se encuentra en estudio.

El óxido nítrico (NO) relaja el músculo liso de los vasos sanguíneos, y tiene muchas otras funciones biológicas importantes

La acetilcolina es un vasodilatador que actúa al causar relajación del músculo liso de los vasos sanguíneos; sin embargo, no actúa de manera directa sobre el músculo liso. Una observación clave fue que si las **células endoteliales** se separaban de las células de músculo liso subyacentes, la acetilcolina ya no ejercía su efecto vasodilatador. Este dato indicó que los vasodilatadores como la acetilcolina inicialmente interactúan con las células endoteliales de los vasos sanguíneos de pequeño calibre por medio de receptores. Los receptores están acoplados al ciclo de la fosfoinositida, lo que lleva a la liberación intracelular de Ca^{2+} por medio de la acción del trifosfato de inositol. A su vez, el aumento del Ca^{2+} lleva a la liberación de **factor relajante derivado del endotelio** (**EDRF**), que se difunde hacia el músculo liso adyacente. Ahí, reacciona con la porción hem de una guanilil ciclasa soluble, lo que da por resultado la activación de esta última, con aumento consiguiente de las concentraciones intracelulares de **cGMP** (**figura 49-15**). Esto, a su vez, estimula las actividades de ciertas proteína cinasas dependientes de cGMP, que probablemente fosforila proteínas musculares específicas, lo que causa relajación; no obstante, los detalles aún se están esclareciendo. El importante vasodilatador de arteria coronaria, **nitroglicerina**, ampliamente usado para aliviar angina de pecho, actúa para aumentar la liberación intracelular de EDRF y, así, de cGMP.

De manera bastante inesperada, se encontró que el EDRF es el gas **óxido nítrico** (**NO**). El NO se forma mediante la acción de la enzima NO sintasa, que es citosólica. Las formas endotelial y neuronal de la NO sintasa se activan por medio de Ca^{2+} (**cuadro 49-8**). El sustrato es **arginina**, y los productos son citrulina y NO.



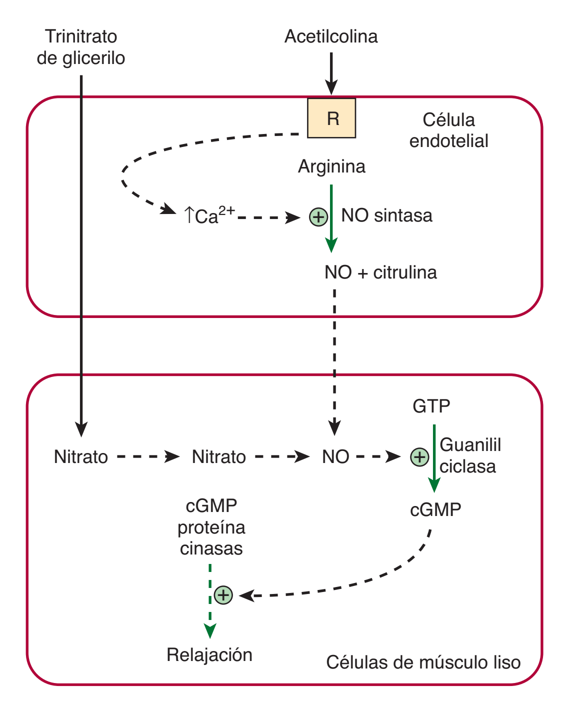


FIGURA 49–15 Diagrama que muestra la formación de óxido nítrico (NO) a partir de arginina en una reacción catalizada por la NO sintasa en una célula endotelial. La interacción de un agonista (p. ej., acetilcolina) con un receptor (R) probablemente lleva a liberación intracelular de Ca^{2+} por medio de trifosfato de inositol generado mediante la vía de la fosfoinositida, lo que da por resultado activación de la NO sintasa. El NO después se difunde hacia músculo liso adyacente, donde lleva a la activación de la guanilil ciclasa, formación de cGMP, estimulación de cGMP proteína cinasas, y relajación subsiguiente. Se muestra el vasodilatador nitroglicerina entrando en la célula de músculo liso, donde su metabolismo también lleva a la formación de NO.

La **NO sintasa** cataliza una oxidación de cinco electrones de un nitrógeno amidina de la arginina. La L-hidroxiarginina es un intermediario que permanece estrechamente unido a la enzima. La NO sintasa es una enzima muy compleja; emplea cinco cofactores redox: NADPH, FAD, FMN, hem y tetrahidrobiopterina. El NO también puede formarse a partir de **nitrito**, derivado de vasodilatadores como trinitrato de glicerilo durante su metabolismo. El NO tiene una vida muy breve (de aproximadamente 3 a 4 s) en los tejidos porque reacciona con oxígeno y superóxido. El producto de la reacción con superóxido es el **peroxinitrito** ($ONOO^-$), que se descompone para formar el radical $OH^{\cdot}$ muy reactivo. El NO es inhibido por la hemoglobina y otras proteínas, que se le unen de manera estrecha. Ahora se dispone de **inhibidores químicos de la NO sintasa** que pueden disminuir de manera notoria la formación de NO. La administración de esos inhibidores a animales y seres humanos lleva a vasoconstricción y un notorio aumento de la presión arterial, lo que indica que el NO tiene gran importancia en el mantenimiento de la presión arterial *in vivo.* Otro efecto cardiovascular importante es que al aumentar la síntesis de cGMP, actúa como un **inhibidor de la agregación plaquetaria** (cap. 51).

Desde el descubrimiento de la función del NO como vasodilatador, ha habido intenso interés experimental por esta molécula. Ha resultado que desempeña diversas funciones fisiológicas, que comprenden casi todos los tejidos del organismo (**cuadro 49-9**). Se han identificado tres isoformas importantes de

CUADRO 49–8 Resumen de la nomenclatura de las NO sintasas y de los efectos del nocaut de sus genes en ratones

Subtipo	Nombre[1]	Comentarios	Resultado del nocaut de gen en ratones[2]
1	nNOS	La actividad depende de Ca^{2+}; se identificó por vez primera en neuronas; activada por calmodulina	Estenosis pilórica, resistente a apoplejía vascular, conducta sexual agresiva (machos)
2	iNOS[3]	Independiente de Ca^{2+} alto; prominente en macrófagos	Más susceptible a ciertos tipos de infección
3	eNOS	La actividad depende de Ca^{2+} alto; se identificó por vez primera en células endoteliales	Presión arterial media alta

Fuente: Adaptado de Snyder SH: NO. Nature 1995;377:196.
[1] n, neuronal; i, inducible; e, endotelial.
[2] Los nocaut de gen se efectuaron mediante recombinación homóloga en ratones. Las enzimas se caracterizan como neuronal, inducible (macrófago) y endotelial porque éstos fueron los sitios en los cuales se identificaron por vez primera. Aun así, las tres enzimas se han encontrado en otros sitios y la enzima neuronal también es inducible. Cada gen se ha clonado, y se ha determinado su ubicación cromosómica en seres humanos.
[3] La iNOS es independiente de Ca^{2+} pero se une de manera muy estrecha a la calmodulina.

la NO sintasa, cada una de las cuales se ha clonado, y se han determinado las ubicaciones cromosómicas de sus genes en seres humanos. Se han realizado experimentos de noqueo de gen sobre cada una de las tres isoformas, y han ayudado a establecer algunas de las funciones postuladas del NO.

En resumen, la investigación efectuada durante el decenio pasado ha mostrado que el NO desempeña una función importante en muchos procesos fisiológicos y patológicos.

VARIOS MECANISMOS REABASTECEN LAS RESERVAS DE ATP EN EL MÚSCULO

El **ATP** requerido como la fuente de energía constante para el ciclo de la contracción-relajación de músculo puede generarse: 1) mediante glucólisis, usando glucosa sanguínea o glucógeno muscular, 2) mediante fosforilación oxidativa, 3) a partir de fosfato de creatina y 4) a partir de dos moléculas de ADP en una reacción catalizada por adenilil cinasa (**figura 49-16**). La cantidad de ATP en el músculo esquelético sólo es suficiente para proporcionar energía para contracción durante algunos segundos, de modo que el ATP se debe renovar constantemente a partir de una o más de las fuentes anteriores, dependiendo de las condiciones metabólicas. Como se comenta más adelante, hay al menos **dos tipos de fibras** en el músculo esquelético, una predominantemente activa en condiciones **aeróbicas**, y la otra en condiciones **anaeróbicas**; como es de esperarse, usan cada una de las fuentes de energía anteriores en diferentes grados.

CUADRO 49–9 Algunas funciones fisiológicas y afecciones patológicas del óxido nítrico (NO)

- Vasodilatador, importante en la regulación de la presión arterial
- Participa en la erección del pene; el citrato de sildenafil (Viagra) afecta este proceso al inhibir una cGMP fosfodiesterasa
- Neurotransmisor en el cerebro y el sistema nervioso autónomo periférico
- Participación en la potenciación a largo plazo
- Participación en la neurotoxicidad
- La concentración baja de NO está involucrada en la causa del pilorospasmo en la estenosis pilórica hipertrófica en lactantes
- Quizá participe en la relajación del músculo esquelético
- Tal vez constituya parte de un sistema inmunitario primitivo
- Inhibe la adherencia, activación y agregación de plaquetas

El músculo esquelético contiene grandes reservas de glucógeno

El sarcoplasma del músculo esquelético contiene grandes reservas de **glucógeno**, ubicadas en gránulos cerca de las bandas I. La liberación de glucosa a partir del glucógeno depende de una **glucógeno fosforilasa** muscular específica (cap. 19), que puede ser activada por Ca^{2+}, epinefrina y AMP. Para generar glucosa 6-fosfato para glucólisis en el músculo esquelético, la glucógeno fosforilasa b debe activarse hacia fosforilasa mediante fosforilación por la fosforilasa b cinasa (cap. 19). El Ca^{2+} promueve la activación de fosforilasa b cinasa, también mediante fosforilación. Así, el Ca^{2+} tanto inicia la contracción muscular como activa una vía para proporcionar la energía necesaria. La hormona **epinefrina** también activa la glucogenólisis en el músculo. El **AMP**, que se produce por desintegración del ADP durante el ejercicio muscular, también puede activar a la fosforilasa b sin causar fosforilación. La glucógeno fosforilasa b muscular es inactiva en la **enfermedad de McArdle**, una de las enfermedades por depósito de glucógeno (cap. 19).

En condiciones aeróbicas, el músculo genera ATP principalmente mediante fosforilación oxidativa

La síntesis de ATP por medio de **fosforilación oxidativa** requiere un aporte de oxígeno. Los músculos que tienen demanda alta de oxígeno como resultado de contracción sostenida (p. ej., para mantener la postura) lo almacenan unido a la porción hem de la **mioglobina**. Debido a la porción hem, los músculos que contienen mioglobina son de color rojo, mientras que aquellos con poca o ninguna mioglobina son de color blanco. La **glucosa**, derivada de la glucosa sanguínea o de glucógeno endógeno, y los **ácidos grasos** derivados de los triacilgliceroles del tejido adiposo, son

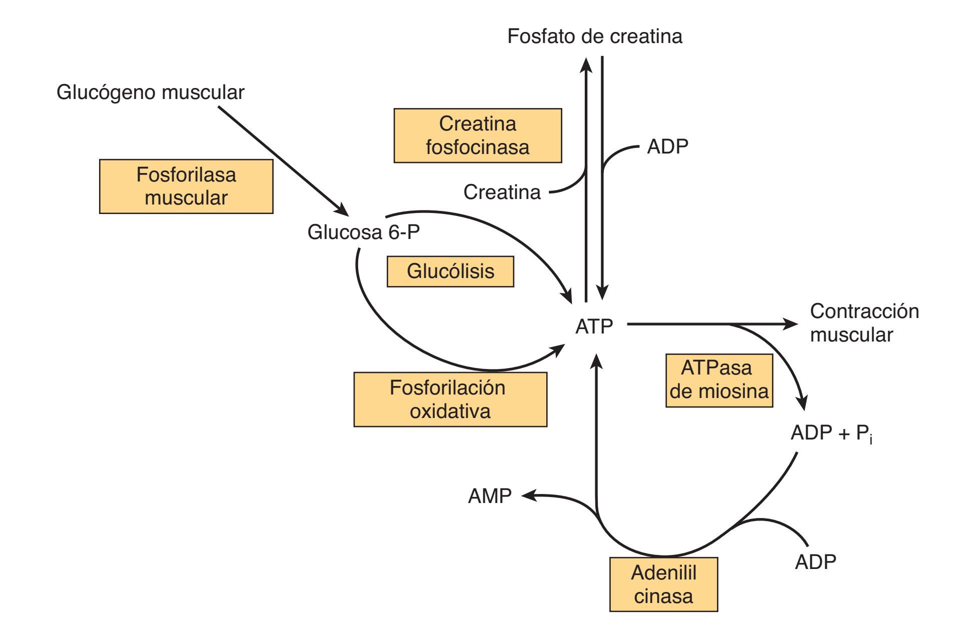


FIGURA 49–16 Las múltiples fuentes de ATP en el músculo.

los principales sustratos que se usan para el metabolismo aeróbico en el músculo.

El fosfato de creatina constituye una importante reserva de energía en el músculo

El **fosfato de creatina** evita el agotamiento rápido de ATP al proporcionar un fosfato de alta energía fácilmente disponible que puede usarse para regenerar ATP a partir de ADP. El fosfato de creatina se forma a partir de ATP y creatina (figura 49-16) en momentos en que el músculo está relajado y las demandas de ATP no son tan grandes. La enzima que cataliza la fosforilación de la creatina es la **creatina cinasa** (CK), una enzima específica para músculo que tiene utilidad clínica en la detección de enfermedades agudas o crónicas de este último.

EL MÚSCULO ESQUELÉTICO CONTIENE FIBRAS DE CONTRACCIÓN LENTA (ROJAS) Y RÁPIDAS (BLANCAS)

Se han detectado diferentes tipos de fibras en el músculo esquelético. Una clasificación las subdivide en tipo I (de contracción lenta), tipo IIA (contracción rápida-oxidativa) y tipo IIB (contracción rápida-glucolítica). En aras de la sencillez, sólo se considerarán dos tipos: tipo I (contracción lenta, oxidativa) y tipo II (contracción rápida, glucolítica) (**cuadro 49-10**). Las fibras **tipo I** son rojas porque contienen mioglobina y mitocondrias; su metabolismo es aeróbico, y mantienen contracciones relativamente sostenidas. Las fibras **tipo II** carecen de mioglobina y contienen pocas mitocondrias, son de color blanco: obtienen su energía a partir de la glucólisis anaeróbica, y muestran duraciones de contracción relativamente breves. La **proporción** de estos dos tipos de fibras varía entre los músculos del cuerpo, dependiendo de la función (p. ej., si un músculo participa o no en la contracción sostenida, como el mantenimiento de la postura). La proporción también varía con el **entrenamiento**; por ejemplo, el número de fibras tipo I en ciertos músculos de las piernas aumenta en atletas que entrenan para maratones, mientras que el número de fibras tipo II se incrementa en corredores de velocidad o *sprinters*.

Un corredor de velocidad usa fosfato de creatina y glucólisis anaeróbica para sintetizar ATP, mientras que un maratonista emplea fosforilación oxidativa

En vista de los dos tipos de fibras en el músculo esquelético y de las diversas fuentes de energía ya descritas, es interesante comparar su participación en un *sprint* (p. ej., 100 m) y en el maratón (42.2 km; poco más de 26 millas) (**cuadro 49-11**).

Las principales fuentes de energía en el ***sprint* de 100 m** son el **fosfato de creatina** (primeros 4 a 5 s) y después la **glucólisis anaeróbica**, usando el glucógeno muscular como la fuente de glucosa. Los dos principales sitios de control metabólico están en la **glucógeno fosforilasa** y en la **PFK-1**. La primera se activa mediante el Ca^{2+} (liberado a partir del SR durante la contracción),

CUADRO 49–10 Características de las fibras tipos I y II del músculo esquelético

	Tipo I contracción lenta	Tipo II contracción rápida
ATPasa de miosina	Baja	Alta
Utilización de energía	Baja	Alta
Mitocondrias	Muchas	Pocas
Color	Rojo	Blanco
Mioglobina	Sí	No
Índice de contracción	Lento	Rápido
Duración	Prolongada	Breve

CUADRO 49–11 Tipos de fibras musculares y principales fuentes de combustibles usadas por un *sprinter* y por un corredor de maratón

Sprinter **(100 m)**	**Maratonista**
Se usan de manera predominante fibras tipo II (glucolíticas)	Se usan de manera predominante fibras tipo I (oxidativas)
El fosfato de creatina es la principal fuente de energía durante los primeros 4 a 5 s	El ATP es la principal fuente de energía de principio a fin
La glucosa derivada del glucógeno muscular y metabolizada mediante glucólisis anaeróbica es la principal fuente de combustible	La glucosa y los ácidos grasos libres en la sangre son las principales fuentes de combustible
El glucógeno muscular se agota con rapidez	El glucógeno muscular se agota con lentitud

epinefrina y AMP. La PFK-1 se activa por AMP, P_i y NH_3. El flujo por glucólisis puede aumentar hasta 1 000 veces durante un *sprint*, lo que atestigua la eficiencia de estos procesos.

En contraste, en el **maratón**, el **metabolismo aeróbico** es la principal fuente de ATP. Las principales fuentes de combustible son la **glucosa sanguínea** y los **ácidos grasos libres**, en su mayor parte derivados de la desintegración de triacilgliceroles en el tejido adiposo, estimulada por la epinefrina. El glucógeno hepático se degrada para mantener la concentración de glucosa en la sangre. El glucógeno muscular también es una fuente de combustible, pero se degrada de manera mucho más paulatina que en un *sprint*. Se ha calculado que durante un maratón la cantidad de glucosa en la sangre, glucógeno en el hígado, glucógeno en el músculo y triacilglicerol en el tejido adiposo es suficiente para proporcionar energía al músculo durante 4, 18, 70 y aproximadamente 4 000 min, respectivamente. Sin embargo, la tasa de oxidación de ácidos grasos por el músculo es más lenta que la de glucosa, de tal modo que la oxidación de glucosa y de ácidos grasos es una fuente importante de energía en el maratón.

Los atletas han usado diversos procedimientos para contrarestar la fatiga muscular y la fuerza inadecuada, entre los cuales se incluyen **carga de carbohidratos**, **carga de soda** (**bicarbonato de sodio**), **dopaje con sangre** (administración de eritrocitos), e ingestión de **creatina** y **androstenediona**. Su lógica y eficacia no se comentarán aquí.

EL MÚSCULO ESQUELÉTICO CONSTITUYE LA PRINCIPAL RESERVA DE PROTEÍNA EN EL ORGANISMO

En seres humanos, la **proteína del músculo esquelético** es la principal fuente de energía almacenada que no es grasa. Esto explica las pérdidas muy grandes de masa muscular, particularmente en adultos, originadas por nutrición calórica insuficiente prolongada.

Es difícil estudiar *in vivo* la **desintegración de proteína hística**, porque los aminoácidos que se liberan durante la desintegración de proteína intracelular pueden reutilizarse de manera extensa para la síntesis de proteína dentro de las células, o los aminoácidos se pueden transportar hacia otros órganos donde entran en vías anabólicas. Empero, la actina y miosina se metilan mediante una reacción postraduccional, y forman **3-metilhistidina**. Durante la desintegración intracelular de actina y de miosina, se libera 3-metilhistidina y se excreta hacia la orina. El gasto urinario del aminoácido metilado proporciona un índice fiable del índice de desintegración de proteínas miofibrilares en la musculatura de seres humanos.

El **cuadro 49-12** resume diversas características del metabolismo muscular, la mayor parte de las cuales se aborda en otros capítulos de este libro.

CUADRO 49–12 Resumen de las principales características de las propiedades bioquímicas del músculo esquelético relacionadas con su metabolismo[1]

- El músculo esquelético funciona en condiciones tanto aeróbicas (en reposo) como anaeróbicas (p. ej., *sprints*), de modo que opera la glucólisis tanto aeróbica como anaeróbica, dependiendo de las condiciones.
- El músculo esquelético contiene mioglobina como un reservorio de oxígeno.
- El músculo esquelético contiene diferentes tipos de fibras principalmente idóneas para condiciones anaeróbicas (fibras de contracción rápida) o aeróbicas (fibras de contracción lenta).
- La actina, miosina, tropomiosina, complejo de troponina (TpT, TpI y TpC), ATP, y Ca^{2+}, son constituyentes clave en relación con la contracción.
- La Ca^{2+} ATPasa, el canal de liberación de Ca^{2+}, y la calsecuestrina son proteínas que participan en diversos aspectos del metabolismo del Ca^{2+} en el músculo.
- La insulina actúa sobre el músculo esquelético para aumentar la captación de glucosa.
- En el estado posprandial, casi toda la glucosa se usa para sintetizar glucógeno, que actúa como una reserva de glucosa para uso en el ejercicio; algunos atletas de larga distancia usan "precarga" con glucosa para aumentar las reservas de glucógeno.
- La epinefrina estimula la glucogenólisis en el músculo esquelético, mientras que el glucagón no lo hace debido a la ausencia de sus receptores.
- El músculo esquelético no puede contribuir de manera directa a la glucosa sanguínea porque carece de glucosa-6-fosfatasa.
- El lactato producido por el metabolismo anaeróbico en el músculo esquelético pasa hacia el hígado, que lo usa para sintetizar glucosa, que después puede regresar al músculo (el ciclo de Cori).
- El músculo esquelético contiene fosfocreatina, que actúa como una reserva de energía para demandas a corto plazo (segundos).
- Los ácidos grasos libres en el plasma son una fuente importante de energía, particularmente en condiciones de maratón y en la inanición prolongada.
- El músculo esquelético puede utilizar cuerpos cetónicos durante la inanición.
- El músculo esquelético es el principal sitio de metabolismo de aminoácidos de cadena ramificada, que se usan como fuente de energía.
- La proteólisis del músculo durante la inanición proporciona aminoácidos para gluconeogénesis.
- Los aminoácidos importantes que emanan del músculo son alanina (destinada principalmente para gluconeogénesis en el hígado y que forma parte del ciclo de la glucosa-alanina) y glutamina (destinada esencialmente para el intestino y los riñones).

[1] Este cuadro une material de diversos capítulos de este libro.

CUADRO 49–13 Algunas propiedades de los microfilamentos y microtúbulos

	Microfilamentos	Microtúbulos
Proteína(s)	Actina	α y β-tubulinas
Diámetro	8 a 9 nm	25 nm
Funciones	Estructural, motilidad	Estructural, motilidad, polaridad

Nota: El cuadro 49-14 describe algunas propiedades de los filamentos intermedios.

EL CITOESQUELETO DESEMPEÑA MÚLTIPLES FUNCIONES CELULARES

Las células no musculares desempeñan trabajo mecánico, lo que incluye autopropulsión, morfogénesis, división, endocitosis, exocitosis, transporte intracelular, y cambio de la forma de la célula. Estas funciones celulares se llevan a cabo mediante una extensa red intracelular de estructuras filamentosas que constituyen el **citoesqueleto**. El citoplasma celular no es un saco de líquido, como alguna vez se creyó. En esencia, todas las células eucarióticas contienen tres tipos de estructuras filamentosas: **filamentos de actina** (también conocidos como microfilamentos), **microtúbulos** y **filamentos intermedios**. Cada tipo de filamento puede distinguirse desde el punto de vista bioquímico y mediante el microscopio electrónico.

Los cuadros **49-13** y **49-14** resumen algunas propiedades de estas tres estructuras.

CUADRO 49–14 Clases de filamentos intermedios en células eucarióticas y sus distribuciones

Proteínas	Masa molecular (kDa)	Distribuciones
Láminas		
A, B y C	65 a 75	Lámina nuclear
Queratinas		
Tipo I (ácida)	40 a 60	Células epiteliales, pelo, uñas
Tipo II (básica)	50 a 70	Como para el tipo I (acídico)
Parecida a vimentina		
Vimentina	54	Diversas células mesenquimatosas
Desmina	53	Músculo
Proteína ácida fibrilar glial	50	Células gliales
Periferina	66	Neuronas
Neurofilamentos		
Baja (L), media (M) y alta (H)[1]	60 a 130	Neuronas

Nota: Los filamentos intermedios tienen un diámetro aproximado de 10 nm, y desempeñan diversas funciones. Por ejemplo, las queratinas están distribuidas ampliamente en células epiteliales y se adhieren por medio de proteínas adaptadoras a desmosomas y hemidesmosomas. Las láminas proporcionan apoyo para la membrana nuclear.
[1] Se refiere a sus masas moleculares.

Las células no musculares contienen actina que forma microfilamentos

La **actina G** está presente en casi todas las células del cuerpo, si no es que en todas. Con concentraciones apropiadas de magnesio y cloruro de potasio, se polimeriza de manera espontánea para formar filamentos de **actina F** de doble hélice como los que se observan en el músculo. Hay al menos dos tipos de actina en células no musculares: β-actina y γ-actina. Ambos tipos pueden coexistir en la misma célula, y probablemente incluso copolimerizarse en el mismo filamento. En el citoplasma, la **actina F** forma **microfilamentos** de 7 a 9.5 nm que suelen existir como fascículos de una red de aspecto enmarañado. Estos fascículos son notorios justo por debajo de la membrana plasmática de muchas células, y se denominan **fibras de estrés**. Dichas fibras desaparecen a medida que la motilidad celular aumenta o en el momento de transformación maligna de células por sustancias químicas o virus oncogénicos.

Aunque no están organizados como en el músculo, los filamentos de actina en células no musculares interactúan con **miosina** para causar movimientos celulares.

Los microtúbulos contienen α- y β-tubulinas

Los **microtúbulos**, un componente integral del citoesqueleto celular, constan de tubos citoplásmicos de 25 nm de diámetro, y a menudo de longitud extrema (**figura 49-17**). Los microtúbulos se necesitan para la formación y función del **huso mitótico** y, así, están presentes en todas las células eucarióticas. También participan en el movimiento intracelular de **vesículas** endocíticas y exocíticas, y forman los principales componentes estructurales de **cilios** y **flagelos**. Los microtúbulos son un componente importante de los **axones** y las **dendritas**, en los cuales mantienen la estructura y participan en el flujo axoplásmico de material a lo largo de estas prolongaciones neuronales.

Los **microtúbulos** son cilindros de 13 protofilamentos dispuestos de manera longitudinal, cada uno de los cuales consta de dímeros de **α-tubulina** y **β-tubulina**, proteínas estrechamente relacionadas de masa molecular de aproximadamente 50 kDa. Los dímeros de tubulina se montan hacia protofilamentos y después hacia hojas y posteriormente cilindros. Un centro organizador de microtúbulos, localizado alrededor de un par de centriolos, produce nucleación del crecimiento de nuevos microtúbulos. Una tercera especie de tubulina, la **γ-tubulina**, parece tener una función importante en este montaje. Se requiere **GTP** para el montaje. Diversas proteínas se relacionan con microtúbulos (**proteínas relacionadas con microtúbulos [MAP]**, una de las cuales es **tau**) y tienen funciones importantes en el montaje y la estabilización de microtúbulos. Los microtúbulos se encuentran en un estado de inestabilidad dinámica; constantemente se montan y desmontan. Muestran **polaridad** (extremos positivo y negativo); esto es importante en su crecimiento a partir de centriolos, y en su capacidad para dirigir el movimiento intracelular. Por ejemplo, en el transporte axonal, la proteína **cinesina**, con una actividad de ATPasa parecida a miosina, usa hidrólisis de ATP para mover vesículas por el axón hacia el extremo positivo de la formación microtubular. La **dineína citosólica**, otra proteína

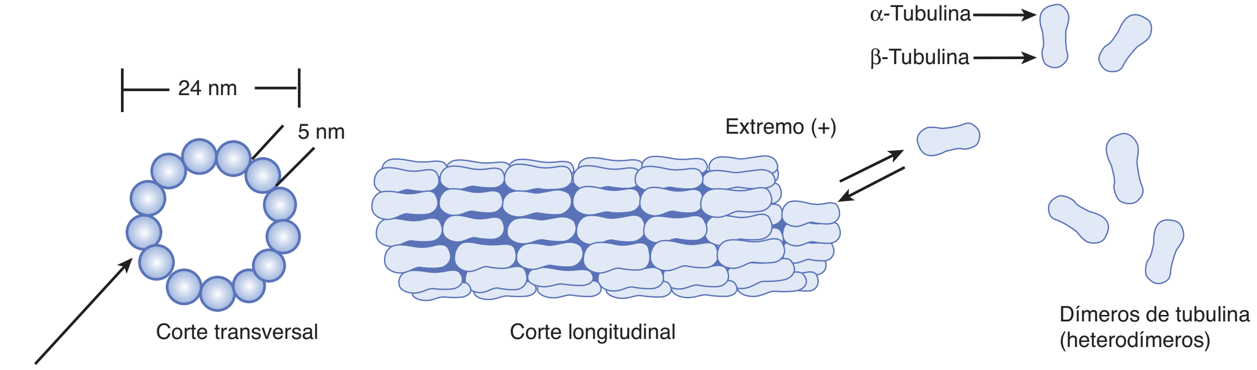


FIGURA 49–17 **Representación esquemática de microtúbulos.** En la parte superior izquierda se muestra un dibujo de microtúbulos como se observa en la microscopia electrónica después de fijación con ácido tánico en glutaraldehído. El ácido tánico denso delinea las subunidades de tubulina no teñidas. Los cortes transversales de túbulos revelan un anillo de 13 subunidades de dímeros dispuestos en una espiral. Los cambios de la longitud de microtúbulos se deben a la adición o pérdida de subunidades de tubulina individuales. Se encuentran disposiciones características de microtúbulos (que no se muestran aquí) en centriolos, cuerpos basales, cilios y flagelos. (Reproducida, con autorización, de Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO: *Basic Histology,* 7th ed. Appleton & Lange, 1992.)

con actividad de ATPasa, proporciona la energía para el flujo de materiales en la dirección opuesta, hacia el extremo negativo. De modo similar, las **dineínas axonémicas** proveen la energía para los movimientos ciliar y flagelar. Otra proteína, la **dinamina**, usa GTP, y participa en la endocitosis. Las cinesinas, dineínas, dinamina y miosinas se denominan **motores moleculares**.

La falta de dineína en los cilios y flagelos da por resultado inmovilidad de los mismos, y lleva a esterilidad masculina, *situs inversus* e infección respiratoria crónica, enfermedad conocida como el **síndrome de Kartagener** (OMIM 244400). En individuos con este síndrome se han detectado mutaciones en genes que afectan la síntesis de dineína.

Ciertos **fármacos** se unen a microtúbulos y, así, interfieren con su montaje y desmontaje. Entre ellos se encuentran **colchicina** (que se usa para tratar artritis gotosa aguda), **vinblastina** (un alcaloide de la vinca usado para tratar ciertos tipos de cáncer), **paclitaxel** (eficaz contra cáncer ovárico) y **griseofulvina** (antimicótico).

Los filamentos intermedios difieren de los microfilamentos y los microtúbulos

Existe un sistema fibroso intracelular de filamentos con una periodicidad axial de 21 nm y un diámetro de 8 a 10 de nm que es intermedio entre el de microfilamentos (6 nm) y microtúbulos (23 nm). Se encuentran al menos cuatro clases de **filamentos intermedios** (cuadro 49-14).

Todos son moléculas alargadas, fibrosas, con un dominio de varilla central, una cabeza amino terminal, y una cola carboxilo terminal. Forman una estructura como una cuerda, y los filamentos maduros están compuestos de tetrámeros apretados entre sí de una manera helicoidal. Son componentes estructurales importantes de las células, y casi todos son componentes **relativamente estables** del citoesqueleto, que no pasan por montaje y desmontaje rápidos, y no desaparecen durante la mitosis, como lo hacen la actina y muchos otros filamentos microtubulares.

Una importante excepción a esto son las **láminas**, que, después de fosforilación, se desmontan en el momento de la mitosis y reaparecen cuando termina. Las **láminas** forman una red en yuxtaposición con la membrana nuclear interna.

Las mutaciones en el gen que codifica para **lámina A** y lámina C causan síndrome de progeria, de Hutchinson-Gilford (**progeria**) (OMIM 176670), caracterizado por **envejecimiento acelerado** y otras características. Una forma farnesilada (en la figura 26-2 se presenta la estructura del farnesil) de prelámina A se acumula en la enfermedad, porque la mutación altera el sitio de acción proteolítica normal para dividir la porción farnesilada de la lámina A. La lámina A es un importante componente del andamiaje estructural que mantiene la integridad del núcleo de una célula. Parece ser que la acumulación de la prelámina A farnesilada hace inestables a los núcleos, lo que altera su forma, y de algún modo esto predispone a la aparición de signos de envejecimiento prematuro. Experimentos en ratones han indicado que la administración de un inhibidor de la farnesiltransferasa puede aminorar la aparición de núcleos deformes. Los niños afectados por esta enfermedad a menudo mueren durante la adolescencia por aterosclerosis. En la **figura 49-18** se muestra un breve esquema de la causa de la progeria.

Las **queratinas** forman una familia grande; se distinguen alrededor de 30 miembros. Se encuentran dos tipos principales de queratinas (cuadro 49-14); todas las queratinas individuales son **heterodímeros** constituidos por un miembro de cada clase.

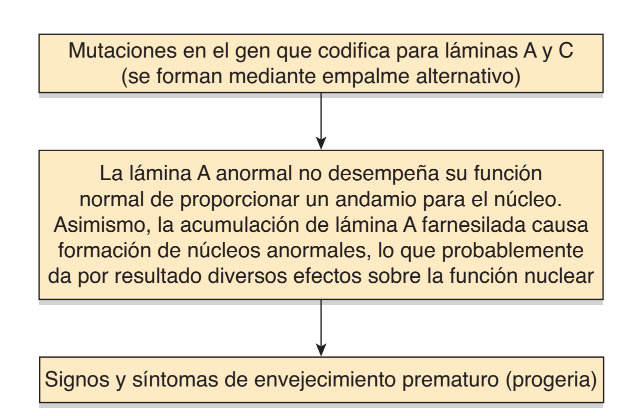


FIGURA 49–18 **Esquema de la causa de la progeria (síndrome de Hutchinson-Gilford, OMIM 176670).**

Las **vimentinas** están ampliamente distribuidas en células mesodérmicas, y la desmina, la proteína ácida fibrilar glial, y la periferina, se relacionan con ellas. Todos los miembros de la familia parecida a vimentina se pueden copolimerizar entre sí.

Los filamentos intermedios son muy prominentes en las células nerviosas; los neurofilamentos se clasifican como bajos, medios y altos con base en su masa molecular. La **distribución de filamentos intermedios** en células normales y anormales (p. ej., cancerosas) puede estudiarse mediante el uso de técnicas de inmunofluorescencia, usando anticuerpos de especificidades apropiadas. Estos anticuerpos contra filamentos intermedios específicos también pueden ser útiles a los patólogos al ayudarlos a determinar el origen de ciertos tumores malignos desdiferenciados. Estos tumores aún pueden retener el tipo de filamentos intermedios que se encuentran en su célula de origen.

Se ha encontrado que diversas **enfermedades cutáneas**, principalmente caracterizadas por formación de vesículas, se deben a mutaciones en los genes que codifican para **diversas queratinas**. Dos de estos trastornos son la epidermólisis ampollar simple (OMIM 131800) y la queratodermia palmoplantar epidermolítica (OMIM 144200). La formación de **vesículas** que se encuentra en estos trastornos probablemente refleja capacidad disminuida de diversas capas de la piel para resistir a tensiones mecánicas debido a anormalidades de la estructura de la queratina.

RESUMEN

- Las miofibrillas del músculo esquelético contienen filamentos gruesos y delgados. Los filamentos gruesos contienen miosina, y los delgados, actina, tropomiosina y el complejo de troponina (troponinas T, I y C).
- El modelo del puente transversal de filamento deslizante es el fundamento del pensamiento actual acerca de la contracción muscular. La base de este modelo es que los filamentos que muestran interdigitación se deslizan más allá uno de otro durante la contracción, y los puentes transversales entre miosina y actina generan la tensión y la sostienen.
- La hidrólisis de ATP se usa para impulsar el movimiento de filamentos. El ATP se une a cabezas de miosina y se hidroliza hacia ADP y P_i mediante la actividad de ATPasa del complejo de actomiosina.
- El Ca^{2+} desempeña una función clave en el inicio de la contracción muscular al unirse a la troponina C. En el músculo esquelético, el retículo sarcoplásmico regula la distribución de Ca^{2+} hacia los sarcómeros, mientras que el flujo hacia dentro de Ca^{2+} mediante canales de Ca^{2+} en el sarcolema tiene gran importancia en los músculos cardiaco y liso.
- Muchos casos de hipertermia maligna en seres humanos se deben a mutaciones en el gen que codifica para el canal de liberación de Ca^{2+}.
- Hay varias diferencias entre los músculos esquelético y cardiaco; en particular, este último contiene diversos receptores sobre su superficie.
- Algunos casos de miocardiopatía hipertrófica familiar se deben a mutaciones sin sentido en el gen que codifica para cadena pesada de β-miosina. También se han detectado mutaciones en genes que codifican para varias otras proteínas.
- El músculo liso, a diferencia de los músculos esquelético y cardiaco, no contiene el sistema de troponina; en su lugar, la fosforilación de cadenas ligeras de miosina inicia la contracción.
- El óxido nítrico (NO) es un regulador del músculo liso vascular; el bloqueo de su formación a partir de arginina causa un aumento agudo de la presión arterial, lo que indica que la regulación de esta última es una de sus principales funciones.
- La distrofia muscular tipo Duchenne se debe a mutaciones en el gen, localizado en el cromosoma X, que codifica para la proteína distrofina.
- Dos tipos importantes de fibras musculares se encuentran en seres humanos: blancas (anaeróbicas) y rojas (aeróbicas). Las primeras se usan particularmente en *sprints* y las segundas en ejercicio aeróbico prolongado. Durante un *sprint*, el músculo usa fosfato de creatina y glucólisis como fuentes de energía; en el maratón, la oxidación de ácidos grasos tiene gran importancia durante las fases más tardías.
- Las células no musculares desempeñan diversos tipos de trabajo mecánico llevado a cabo por las estructuras que constituyen el citoesqueleto. Estas estructuras incluyen filamentos de actina (microfilamentos), microtúbulos (compuestos principalmente de α-tubulina y β-tubulina), y filamentos intermedios. Estos últimos incluyen láminas, queratinas, proteínas parecidas a vimentina, y neurofilamentos. Las mutaciones en el gen que codifica para lámina A causan progeria, enfermedad caracterizada por envejecimiento prematuro. Las mutaciones en genes que codifican para ciertas queratinas provocan diversas enfermedades de la piel.

REFERENCIAS

Alberts B, Johnson A, Lewis J, *et al*: *Molecular Biology of the Cell*, 5th ed. Garland Science, 2008. (Contiene excelente cobertura sobre los temas de músculo y esqueleto.)

Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL: *Ganong's Review of Medical Physiology*, 23rd ed. McGraw-Hill Lange, 2010. (Contiene excelente cobertura sobre la estructura y función de los músculos esquelético, cardiaco y liso.)

Brosnan JT, Brosnan ME: Creatine: endogenous metabolite, dietary and therapeutic supplement. Annu Rev Nutr 2007;27:241.

Cooper GM, Hausman RE: *The Cell: A Molecular Approach*, 5th ed. Sinauer Associates Inc., 2009. (Contiene excelente cobertura sobre los temas de músculo y esqueleto.)

Lodish H, Berk A, Kaiser CA, et al: *Molecular Cell Biology,* 6th ed. WH Freeman & Co, 2008. (Contiene excelente cobertura sobre los temas de músculo y esqueleto.)

Murad F: Nitric oxide and cyclic GMP in cell signalling and drug development. N Engl J Med 2006;355:2003.

Murphy RT, Starling RC: Genetics and cardiomyopathy: where are we now? Cleve Clin J Med 2005;72:465.

Neubauer S: The failing heart—an engine out of fuel. N Engl J Med 2007;356:1140.

Pollard TD, Earnshaw WC: *Cell Biology,* 2nd ed. Saunders, 2008. (Contiene excelente cobertura sobre los temas de músculo y esqueleto.)

Sanders KM: Regulation of smooth muscle excitation and contraction. Neurogastroenterol Motil 2008;20 Suppl 1:39.

Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001. (Este completo texto en cuatro volúmenes y su edición actualizada en línea [véase capítulo 1] incluye capítulos sobre hipertermia maligna, enfermedades de los conductos, miocardiopatía hipertrófica, distrofias musculares y trastornos de los filamentos intermedios.)

Sweeney HL, Houdusse A: Structural and functional insights into the myosin motor mechanism. Annu Rev Biophys 2010;39:539.

Taimen P, Pfleghaar K, Shimi T, et al: A progeria mutation reveals functions for lamin A in nuclear assembly, architecture, and chromosome organization. Proc Natl Acad Sci USA 2009;106(49):20788.

CAPÍTULO 50

Proteínas plasmáticas e inmunoglobulinas

Robert K. Murray, MD, PhD; Molly Jacob, MB, BS, MD, PhD y Joe Varghese, MB, BS, MD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Listar las principales funciones de la sangre.
- Explicar las funciones de las principales proteínas plasmáticas, entre ellas albúmina, haptoglobina, transferrina, ceruloplasmina, α_1-antitripsina y α_2-macroglobulina.
- Describir cómo se mantiene la homeostasis del hierro, y cómo está afectada en ciertos trastornos.
- Describir las estructuras y funciones generales de las cinco clases de inmunoglobulinas, y los usos de anticuerpos monoclonales.
- Apreciar que el sistema de complemento está involucrado en varios procesos biológicos importantes.
- Indicar las causas de la enfermedad de Wilson, la enfermedad de Menkes, las enfermedades pulmonares y hepáticas asociadas con deficiencia de α_1-antitripsina, amiloidosis, mieloma múltiple y agammaglobulinemia.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La función fundamental de la sangre en el mantenimiento de la **homeostasis** (capítulo 51), y la facilidad con la cual puede obtenerse sangre, han significado que el estudio de sus constituyentes ha sido esencial en el desarrollo de la bioquímica y la bioquímica clínica. En este capítulo se describen las propiedades básicas de diversas **proteínas plasmáticas**, incluso de las **inmunoglobulinas** (anticuerpos). En muchas enfermedades ocurren cambios de las cantidades de diversas proteínas plasmáticas e inmunoglobulinas, y pueden vigilarse por medio de electroforesis u otros procedimientos idóneos. Como ya se indicó en un capítulo anterior, las alteraciones de las actividades de ciertas **enzimas** que se encuentran en el plasma tienen utilidad diagnóstica en diversos estados patológicos. En el capítulo 51 se comentan las proteínas plasmáticas que participan en la coagulación de la sangre.

LA SANGRE TIENE MUCHAS FUNCIONES

El plasma y sus constituyentes llevan a cabo las funciones de la sangre, excepto por las celulares específicas, como el transporte de oxígeno y la defensa inmunitaria mediada por células (**cuadro 50-1**).

El **plasma** consta de agua, electrólitos, metabolitos, nutrientes, proteínas y hormonas. La composición de agua y electrólitos del plasma es prácticamente la misma que la de todos los líquidos extracelulares. Las cuantificaciones de laboratorio de las cifras de Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Cl^-, HCO_3^-, $PaCO_2$, y el pH de la sangre, tienen importancia en el manejo de muchos pacientes.

EL PLASMA CONTIENE UNA MEZCLA COMPLEJA DE PROTEÍNAS

La concentración de proteína total en el plasma de seres humanos es de alrededor de 7.0 a 7.5 g/dl, e incluye la mayor parte de los sólidos del plasma. Las proteínas del plasma en realidad son una mezcla compleja que comprende proteínas no sólo simples sino también conjugadas, como **glucoproteínas** y diversos tipos de **lipoproteínas**. El uso de técnicas de proteómica está permitiendo el aislamiento y la caracterización de proteínas plasmáticas previamente desconocidas, algunas presentes en cantidades muy pequeñas (p. ej., detectadas en el líquido de hemodiálisis y en el plasma de pacientes con cáncer) lo que, así, expande el **proteoma plasmático**. El plasma de seres humanos contiene miles de **anticuerpos**, aunque en circunstancias normales la cantidad de cualquier anticuerpo por lo general es bastante baja. La **figura 50-1** muestra las dimensiones relativas y la masa molecular de algunas de las proteínas plasmáticas más importantes.

CUADRO 50–1 Principales funciones de la sangre

1. Respiración: transporte de oxígeno desde los pulmones hacia los tejidos y de CO_2 desde los tejidos hacia los pulmones
2. Nutrición: transporte de materiales alimenticios absorbidos
3. Excreción: transporte de desecho metabólico hacia los riñones, los pulmones, la piel y los intestinos para eliminación
4. Mantenimiento del **equilibrio ácido-básico** normal en el organismo
5. Regulación del **balance de agua** por medio de los efectos de la sangre sobre el intercambio de agua entre el líquido circulante y el líquido hístico
6. Regulación de la **temperatura corporal** mediante la distribución de calor del cuerpo
7. Defensa por los leucocitos y anticuerpos circulantes contra infección
8. Transporte de **hormonas** y regulación del metabolismo
9. Transporte de **metabolitos**
10. Coagulación

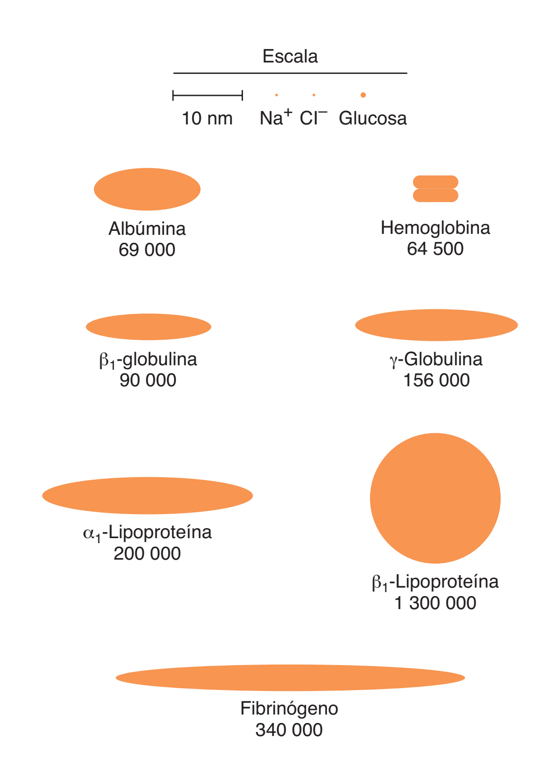
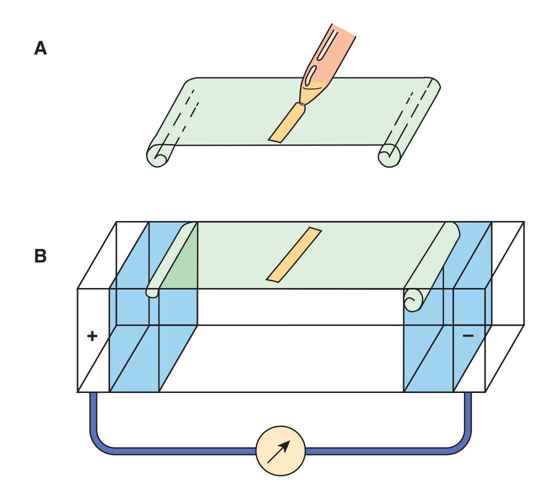
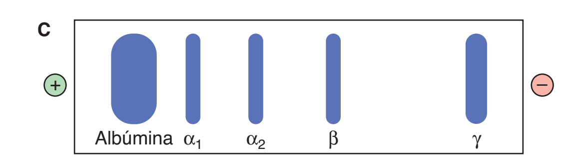


FIGURA 50–1 Dimensiones relativas y masas moleculares aproximadas de moléculas de proteína en la sangre (Oncley).

La **separación** de proteínas individuales desde una mezcla compleja suele lograrse mediante el uso de solventes o electrólitos (o ambos) para eliminar diferentes fracciones de proteína de acuerdo con sus características de solubilidad. Ésta es la base de los métodos de separación de una sustancia disuelta basados en añadir sal a la solución, que encuentran cierto uso en la determinación de fracciones proteínicas en el laboratorio clínico. De este modo, es posible separar las proteínas del plasma en tres grupos principales —**fibrinógeno**, **albúmina** y **globulinas**— por medio del uso de concentraciones variables de sodio o sulfato de amonio.

La **electroforesis** es el método de uso más frecuente para analizar proteínas plasmáticas. Hay muchos tipos de electroforesis, en cada una de las cuales se usa un medio de apoyo diferente. En laboratorios clínicos, el **acetato de celulosa** se emplea ampliamente como un medio de apoyo. Su uso permite resolución, después de tinción, de proteínas plasmáticas hacia cinco bandas, designadas fracciones albúmina, α_1, α_2, β y γ, respectivamente (**figura 50-2**). La tira coloreada de acetato de celulosa (u otro medio de apoyo) se llama electroforetograma. Las cantidades de estas cinco bandas se pueden cuantificar de manera conveniente por medio del uso de aparatos de escaneo densitométricos. En muchas enfermedades se encuentran cambios característicos de las cantidades de una o más de estas cinco bandas.





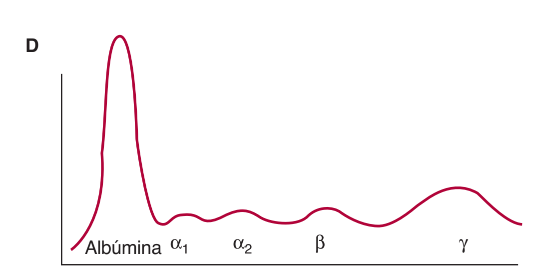


FIGURA 50–2 Técnica de electroforesis de zona en acetato de celulosa. (A) Una pequeña cantidad de suero u otro líquido se aplica a una tira de acetato de celulosa. **(B)** Se efectúa electroforesis de la muestra en amortiguador de electrólito. **(C)** Bandas de proteína separadas se visualizan en posiciones características luego de ser teñidas. **(D)** El escaneo con densitómetro desde la tira de acetato de celulosa convierte las bandas en picos de albúmina, α_1-globulina, β_2-globulina, β-globulina y γ-globulina característicos. (Reproducida, con autorización, de Parslow TG et al. [editores]: *Medical Immunology*, 10th ed. McGraw-Hill, 2001.)

Las cifras de proteína en el plasma tienen importancia en la determinación de la distribución de líquido entre la sangre y los tejidos

En las arteriolas, la **presión hidrostática** es de aproximadamente 37 mm Hg; se opone a ella una presión intersticial (hística) de 1 mm Hg. La **presión osmótica** (presión oncótica) ejercida por las proteínas plasmáticas es de alrededor de 25 mm Hg. De este modo, una fuerza neta hacia afuera de unos 11 mm Hg impulsa el líquido hacia los espacios intersticiales. En las vénulas, la presión hidrostática es de alrededor de 17 mm Hg, con las presiones oncótica e intersticial como se describieron; así, una fuerza neta de alrededor de 9 mm Hg atrae agua de regreso hacia la circulación. Las presiones anteriores a menudo se denominan **fuerzas de Starling**. Si la concentración de proteínas plasmáticas está notoriamente disminuida (p. ej., debido a desnutrición proteínica grave), el líquido no es atraído de regreso hacia el compartimiento intravascular, y se acumula en los espacios hísticos extravasculares, estado conocido como **edema**. El edema tiene muchas causas; la deficiencia de proteína es una de ellas.

Las proteínas plasmáticas se han estudiado de manera extensa

Debido a la facilidad relativa con la cual pueden obtenerse, las proteínas plasmáticas se han estudiado de manera exhaustiva tanto en seres humanos como en animales. Se dispone de considerable información acerca de la biosíntesis, el recambio, la estructura y las funciones de las principales proteínas plasmáticas. También se han investigado las alteraciones de sus cantidades y de su metabolismo en muchos estados morbosos. Durante los últimos años, muchos de los genes que codifican para proteínas plasmáticas se han clonado, y se ha determinado su estructura.

La preparación de **anticuerpos** específicos para las proteínas plasmáticas individuales ha facilitado mucho su estudio, y ha permitido la precipitación y el aislamiento de proteínas puras a partir de la mezcla compleja presente en los tejidos o el plasma. Además, el uso de **isótopos** ha posibilitado determinar sus vías de biosíntesis y sus índices de recambio en el plasma.

Las generalizaciones que siguen han surgido a partir de estudios de proteínas plasmáticas.

Casi todas las proteínas plasmáticas se sintetizan en el hígado

Esto se ha establecido por medio de experimentos en el ámbito de animal entero (p. ej., hepatectomía), y mediante el uso de preparación de hígado perfundido aislado, de rebanadas de hígado, de homogeneizados de hígado, y de sistemas de traducción *in vitro* usando preparaciones de mRNA extraído del hígado. Sin embargo, las γ-globulinas se sintetizan en las células plasmáticas, y ciertas proteínas plasmáticas se sintetizan en otros sitios, como las células endoteliales.

Las proteínas plasmáticas por lo regular se sintetizan en polirribosomas unidos a membrana

Luego pasan por la principal ruta secretora en la célula (membrana endoplásmica rugosa → membrana endoplásmica lisa → aparato de Golgi → vesículas secretoras) antes de entrar en el plasma. De este modo, casi todas las proteínas plasmáticas se sintetizan como **preproteínas**, e inicialmente contienen péptidos señal amino terminal (cap. 46). Por lo general quedan sujetas a diversas modificaciones postraduccionales (proteólisis, glucosilación, fosforilación, etc.) conforme viajan a través de la célula. Los tiempos de tránsito a través del hepatocito desde el sitio de síntesis hacia el plasma varían desde 30 min hasta varias horas o más para proteínas individuales.

Casi todas las proteínas plasmáticas son glucoproteínas

En consecuencia, generalmente contienen cadenas de oligosacárido *N*-enlazadas u *O*-enlazadas, o ambas (cap. 47). La albúmina es la principal excepción; no contiene residuos azúcar. Las cadenas de oligosacárido tienen diversas funciones (cuadro 47-2). La eliminación de residuos ácido siálico terminales de ciertas proteínas plasmáticas (p. ej., ceruloplasmina) por medio de exposición a neuraminidasa puede acortar notoriamente su vida media en el plasma (cap. 47).

Muchas proteínas plasmáticas muestran polimorfismo

Un **polimorfismo** es un rasgo mendeliano o monogénico que existe en la población en al menos dos fenotipos, ninguno de los cuales es raro (es decir, ninguno de ellos sucede con frecuencia de menos de 1 a 2%). Las sustancias del grupo sanguíneo ABO (cap. 52) son los ejemplos más conocidos de polimorfismos del ser humano. Las proteínas plasmáticas del ser humano que muestran polimorfismo son α_1-antitripsina, haptoglobina, transferrina, ceruloplasmina e inmunoglobulinas. Las formas polimórficas de estas proteínas pueden distinguirse mediante diferentes procedimientos (p. ej., diversos tipos de electroforesis o enfoque isoeléctrico), en los cuales cada forma puede mostrar una migración característica. Los análisis de estos polimorfismos del ser humano han resultado tener interés genético, antropológico y clínico.

Cada proteína plasmática tiene una vida media característica en la circulación

La **vida media** de una proteína plasmática puede determinarse al marcar la proteína pura aislada con ^{131}I o Cr^{51} en condiciones leves, no desnaturalizantes. La proteína marcada se libera de isótopo libre no unido, y se determina su actividad específica (desintegraciones por minuto por miligramo de proteína). A continuación se inyecta una cantidad conocida de la proteína radiactiva en un adulto normal, y se obtienen muestras de sangre a diversos intervalos para cuantificaciones de radiactividad. Los valores para radiactividad se grafican contra el tiempo, y la vida media de la proteína (el tiempo para que la radiactividad decline hasta la mitad de su valor máximo) se puede calcular a partir del gráfico resultante, descontando los tiempos para que la proteína inyectada se equilibre (mezcle) en la sangre y en los espacios extravasculares. Las vidas medias obtenidas para la albúmina y la haptoglobina en adultos sanos normales son de alrededor de 5 y 25 días, respectivamente. En ciertas enfermedades, la vida media de una proteína puede estar muy alterada. En algunas enfermedades gastrointestinales, como la ileítis regional (enfermedad

de Crohn), cantidades considerables de proteínas plasmáticas, incluso albúmina, pueden perderse hacia el intestino a través de la mucosa intestinal inflamada. Quienes padecen esta enfermedad tienen una **gastroenteropatía perdedora de proteína**, y en estos sujetos la vida media de la albúmina yodada inyectada puede reducirse hasta apenas un día.

Las cifras de ciertas proteínas en el plasma aumentan durante estados inflamatorios agudos o como consecuencia de ciertos tipos de daño de tejido

Estas proteínas se designan "**proteínas de fase aguda**" (o reactivos de fase aguda), e incluyen **proteína C reactiva** (CRP, así llamada porque reacciona con el polisacárido C de neumococos), α_1-antitripsina, haptoglobina, α_1-glucoproteína ácida y **fibrinógeno**. El incremento de las concentraciones de estas proteínas varía desde apenas 50% hasta 1 000 veces en el caso de la CRP. Sus cifras por lo general también están altas durante estados inflamatorios crónicos, y en individuos con cáncer. Se cree que estas proteínas participan en la respuesta del organismo a la inflamación. Por ejemplo, la CRP puede estimular la vía del complemento clásica (véase adelante), y la α_1-antitripsina puede neutralizar ciertas proteasas liberadas durante el estado inflamatorio agudo. La CRP se emplea como un marcador de lesión hística, infección e inflamación, y hay considerable interés por su uso como un factor predictivo de ciertos tipos de enfermedades cardiovasculares consecutivas a aterosclerosis. La citocina (= una proteína sintetizada por células, que afecta la conducta de otras) interleucina-1 (IL-1), un polipéptido liberado a partir de células fagocíticas mononucleares, es el principal estimulador de las síntesis de casi todos los reactivos de fase aguda por hepatocitos. Participan otras moléculas, como la IL-6 y, al igual que la IL-1, parecen funcionar en el ámbito de la transcripción de gen.

El **factor nuclear kappa-B** (**NFκB**) es un factor de transcripción que ha quedado comprendido en la estimulación de la síntesis de algunas de las proteínas de fase aguda. Este factor importante también participará en la expresión de muchas citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento, y moléculas de adherencia celular implicadas en fenómenos inmunitarios. En circunstancias normales existe en una forma inactiva en el citosol, pero se activa y se transloca hacia el núcleo por medio de la acción de diversas moléculas (p. ej., IL-1) producidas en procesos como inflamación, infección y lesión por radiación.

En el **cuadro 50-2** se resumen las funciones de muchas de las proteínas plasmáticas. En el resto de este capítulo se presenta información básica respecto a proteínas plasmáticas seleccionadas: albúmina, haptoglobina, transferrina, ceruloplasmina, α_1-antitripsina, α_2-macroglobulina, las inmunoglobulinas, y el sistema de complemento. Las lipoproteínas se comentan en el capítulo 25. Es una constante expectativa que se obtenga información nueva sobre proteínas plasmáticas y sus variantes (incluso las comentadas aquí), a medida que las técnicas de proteómica, en especial nuevos métodos sensibles para determinar secuencias de proteínas mediante espectrometría de masa (cap. 4), se aplican a su estudio. Varios laboratorios están participando en esfuerzos por determinar el **proteoma de proteínas plasmáticas del ser humano** completo. Se cree que esto aclarará **variaciones genéticas** en seres humanos, y proporcionará muchos **biomarcadores** nuevos para ayudar en el diagnóstico de muchas enfermedades. (Un biomarcador se ha definido como una característica que se mide de manera objetiva y se evalúa como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patogénicos, o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica.)

CUADRO 50–2 Algunas funciones de las proteínas plasmáticas

Función	Proteínas plasmáticas
Antiproteasas	Antiquimiotripsina α_1-Antitripsina (α_1-antiproteinasa) α_2-Macroglobulina Antitrombina
Coagulación de la sangre	Diversos factores de la coagulación, fibrinógeno
Enzimas	Función en la sangre, p. ej., factores de la coagulación, colinesterasa Escape desde células o tejidos, p. ej., aminotransferasas
Hormonas	Eritropoyetina[1]
Defensa inmunitaria	Inmunoglobulinas, proteínas del complemento, β_2-microglobulina
Participación en respuestas inflamatorias	Proteínas de respuesta de fase aguda (p. ej., proteína C reactiva, glucoproteína α_1-ácida [orosomucoide])
Oncofetal	α_1-fetoproteína (AFP)
Proteínas de transporte o unión	Albúmina (diversos ligandos, entre ellos bilirrubina, ácidos grasos libres, iones [Ca^{2+}], metales [p. ej., Cu^{2+}, Zn^{2+}], methemo, esteroides, otras hormonas, y diversos fármacos) Ceruloplasmina (contiene Cu^{2+}; la albúmina probablemente tiene mayor importancia en el transporte fisiológico de Cu^{2+}) Globulina de unión a corticosteroide (transcortina) (se une a cortisol) Haptoglobina (se une a hemoglobina extracorpuscular) Lipoproteínas (quilomicrones, VLDL, LDL, HDL) Hemopexina (se une a hem) Proteína de unión a retinol (se une a retinol) Globulina de unión a hormona sexual (se une a testosterona, estradiol) Globulina de unión a hormona tiroidea (se une a T_4, T_3) Transferrina (transporte de hierro) Transtiretina (antes prealbúmina; se une a T_4 y forma un complejo con proteína de unión a retinol)

[1] Varias otras hormonas proteínicas circulan en la sangre, pero por lo general no se denominan proteínas plasmáticas. De modo similar, la ferritina también se encuentra en el plasma en cantidades pequeñas, pero tampoco suele caracterizarse como proteína plasmática.

La albúmina es la principal proteína en el plasma del ser humano

La albúmina (69 kDa) es la principal proteína del plasma humano (3.4 a 4.7 g/dl), y constituye un 60% de la proteína plasmática total. Alrededor de 40% de la albúmina está presente en el plasma, y el otro 60% en el espacio extracelular. El hígado produce unos 12 g de albúmina por día, lo que representa alrededor de 25% de la síntesis de proteína hepática total, y la mitad de su proteína secretada. La albúmina inicialmente se sintetiza como una **prepro-**

proteína. Su **péptido señal** se elimina conforme pasa hacia las cisternas del retículo endoplásmico rugoso, y un **hexapéptido** en el amino terminal resultante después se rompe más lejos a lo largo de la vía secretora (figura 46-12). La síntesis de albúmina está deprimida en diversas enfermedades, en particular las del hígado. El plasma de pacientes con **enfermedad hepática** a menudo muestra una disminución de la proporción albúmina:globulina (proporción reducida entre albúmina y globulina). La síntesis de albúmina disminuye en etapas relativamente tempranas en estados de malnutrición proteínica, como el kwashiorkor.

La albúmina humana madura consta de una cadena polipeptídica de 585 aminoácidos, y contiene 17 enlaces disulfuro. Por medio del uso de proteasas, la albúmina puede subdividirse en tres **dominios**, que tienen diferentes funciones. La albúmina muestra una forma elipsoidal, lo que significa que no aumenta la viscosidad del plasma tanto como lo hace una molécula alargada, como el fibrinógeno. Debido a su masa molecular relativamente baja (alrededor de 69 kDa) y concentración alta, se cree que 75 a 80% de la **presión osmótica** del plasma de seres humanos depende de la albúmina. En estudios de electroforesis se ha mostrado que el plasma de ciertos seres humanos carece de albúmina. Se dice que estos pacientes muestran **analbuminemia**. Una causa de este estado es una mutación que afecta el empalme. Los enfermos con analbuminemia sólo muestran edema moderado, a pesar del hecho de que la albúmina es el principal determinante de la presión osmótica del plasma. Se cree que las cantidades de las otras proteínas plasmáticas se incrementan y compensan la falta de albúmina.

Otra función importante de la albúmina es su capacidad para **unirse a diversos ligandos**, los cuales incluyen ácidos grasos libres (FFA), calcio, ciertas hormonas esteroides, bilirrubina, y parte del triptófano plasmático. Más aún, la albúmina parece desempeñar una función importante en el transporte del cobre en el cuerpo humano (véase más adelante). Diversos fármacos, entre ellos las sulfonamidas, penicilina G, dicumarol y aspirina, están unidos a albúmina; este dato tiene inferencias farmacológicas importantes.

Las preparaciones de albúmina humana se han usado ampliamente en el tratamiento de choque hemorrágico y de quemaduras. Empero, algunos estudios recientes cuestionan la utilidad de esta terapia.

La haptoglobina se une a hemoglobina extracorpuscular, lo que evita que la hemoglobina libre entre en los riñones

La **haptoglobina** (Hp) es una glucoproteína plasmática que se une a la hemoglobina (Hb) extracorpuscular en un complejo no covalente estrecho (Hb-Hp). La cantidad de haptoglobina en el plasma humano varía desde 40 hasta a 180 mg de capacidad de unión a hemoglobina por decilitro. Alrededor de 10% de la hemoglobina que se degrada cada día se libera hacia la circulación y, de este modo, es extracorpuscular. El otro 90% está presente en eritrocitos viejos, dañados, que son degradados por células del sistema histiocítico. La masa molecular de la hemoglobina es de aproximadamente 65 kDa, mientras que la de la forma polimórfica más simple de la haptoglobina (Hp 1-1) que se encuentra en seres humanos es de alrededor de 90 kDa. Así, el complejo de Hb-Hp tiene una masa molecular de aproximadamente 155 kDa. La hemoglobina libre pasa por los glomérulos de los riñones, entra en los túbulos, y tiende a precipitarse ahí (como puede ocurrir luego de una transfusión masiva de sangre incompatible, cuando se excede con mucho la capacidad de la haptoglobina para unirse a hemoglobina) (**figura 50-3**). Con todo, el complejo de Hb-Hp es demasiado grande como para pasar por el glomérulo. De esta manera, la función de la Hp parece ser impedir pérdida de hemoglobina libre hacia los riñones. Esto conserva el valioso hierro presente en la hemoglobina, que de otro modo se perdería del organismo.

A. Hb (PM 65 000) → riñón → excretado en la orina o se precipita en los túbulos; se pierde hierro del cuerpo

B. Hb (PM 65 000) + Hp (PM 90 000) → Hb : complejo de Hp (PM 155 000) ⇸ riñón
↓
Catabolizado por las células hepáticas; el hierro se conserva y se vuelve a usar

FIGURA 50–3 **Destinos diferentes de la hemoglobina libre y del complejo de hemoglobina-haptoglobina.**

La haptoglobina humana existe en **tres formas polimórficas**, conocidas como Hp 1-1, Hp 2-1 y Hp 2-2. La Hp 1-1 migra como una banda única en la electroforesis en gel de almidón, mientras que las Hp 2-1 y Hp 2-2 muestran modelos de banda considerablemente más complejos. Dos genes, denominados Hp^1 y Hp^2, dirigen estos tres fenotipos; Hp 2-1 es el fenotipo heterocigoto. Se ha sugerido que el polimorfismo de haptoglobina puede relacionarse con la prevalencia de muchas enfermedades inflamatorias.

Las cifras de haptoglobina en el plasma del ser humano varían, y tienen cierta utilidad diagnóstica. Los individuos con **anemias hemolíticas** muestran concentraciones bajas de haptoglobina. Esto se explica por el hecho de que mientras que la vida media de la haptoglobina es de alrededor de cinco días, la del complejo de Hb-Hp es de unos 90 min; los hepatocitos eliminan con rapidez el complejo del plasma. De esta manera, cuando la haptoglobina está unida a la hemoglobina, se elimina del plasma unas 80 veces más rápido que lo normal. Por ende, hay decremento rápido de las cifras de haptoglobina en situaciones en las cuales la hemoglobina se está liberando constantemente desde los eritrocitos, como sucede en las anemias hemolíticas. La haptoglobina es una proteína de fase aguda, y su concentración plasmática está alta en diversos estados inflamatorios.

La **proteína relacionada con haptoglobina** es otra proteína que se encuentra en el plasma de seres humanos. Tiene un alto grado de homología con la haptoglobina, y parece unirse a la hemoglobina. Sus cifras están altas en algunos sujetos con cáncer, aunque no se entiende la importancia de esto.

Algunas otras proteínas plasmáticas se **unen a hem**, no así a la hemoglobina. La **hemopexina** es una β_1-globulina que se une al hem libre. La **albúmina** se unirá a algo de methemo (hem férrico) para formar methemoalbúmina, que después transfiere el methemo a la hemopexina.

EL HIERRO ES UN CONSTITUYENTE CORPORAL MUY IMPORTANTE, Y SE CONSERVA CELOSAMENTE

La **transferrina** es una importante proteína plasmática involucrada en el transporte de hierro. Antes de comentarla así como

CUADRO 50–3 Distribución del hierro en un varón adulto de 70 kg[1]

Transferrina	3 a 4 mg
Hemoglobina en eritrocitos	2 500 mg
En mioglobina y diversas enzimas	300 mg
En reservas (ferritina)	1 000 mg
Absorción	1 mg/día
Pérdidas	1 mg/día

[1] En una adulta de peso similar, la cantidad en las reservas en general sería menor (100 a 400 mg) y las pérdidas serían mayores (1.5 a 2 mg/día).

varias otras proteínas involucradas en la homeostasis del hierro, se describirán ciertos aspectos del hierro y su metabolismo.

El **hierro** es importante en el cuerpo humano porque se encuentra en muchas hemoproteínas, como hemoglobina, mioglobina y los citocromos (incluso el grupo de enzimas citocromo P450). Un varón adulto normal, de 70 kg de peso, tiene 3 a 4 g de hierro en su organismo, cuya distribución se muestra en el **cuadro 50-3**. En circunstancias normales, el cuerpo guarda celosamente su contenido de hierro. Un varón adulto sano pierde sólo alrededor de 1 mg/día, que es remplazado mediante absorción desde el intestino. Las premenopáusicas requieren casi 1.5 mg/día, y están más propensas a presentar estados de deficiencia de hierro debido a pérdida de sangre durante la menstruación.

El hierro de la dieta se absorbe en el duodeno

El hierro es ingerido en la dieta sea como hierro no hem o como hierro hem. La absorción de hierro por enterocitos de la parte proximal del duodeno es un proceso altamente regulado (**figura 50-4**). El **hierro inorgánico de la dieta**, en estado férrico (Fe^{3+}) es reducido a su forma ferrosa (Fe^{2+}) por una reductasa unida a la membrana del borde en cepillo, el **citocromo b duodenal** (**Dcytb**). La vitamina C, el ácido gástrico y varios otros agentes reductores presentes en los alimentos también pueden favorecer la reducción de hierro férrico a hierro ferroso. La transferencia de hierro a través de la membrana apical de los enterocitos se logra mediante el **transportador de metal divalente 1** (**DMT1 o SLC11A2**). El DMT1 es relativamente inespecífico y puede estar también involucrado en el transporte de otros cationes divalentes, como Mn^{2+}, Co^{2+}, Zn^{2+}, Cu^{2+} y Pb^{2+}. Una vez dentro de los enterocitos, el hierro puede ser almacenado como **ferritina** o puede ser transferido a través de la membrana basolateral hacia la circulación por la proteína exportadora de hierro, **ferroportina** o **proteína regulada por hierro 1** (**IREG1 o SLC40A1**). Este proceso ocurre conjuntamente con la **hefaestina**, una ferroxidasa que contiene cobre homóloga a la ceruloplasmina, que oxida Fe^{2+} hacia Fe^{3+}. El hierro es transportado en el plasma en la forma de Fe^{3+} por la proteína de transporte, **transferrina**. El hierro excesivo que se almacena en los enterocitos como ferritina se pierde cuando los enterocitos se desprenden hacia la luz del intestino.

El **hierro hem** en la dieta es captado por enterocitos por mecanismos independientes de los involucrados en la captación de hierro inorgánico de la dieta. El hem en los enterocitos es desintegrado por la hem oxidasa (HO; cap. 31) para liberar hierro, que es almacenado como ferritina o transportado hacia la circulación por la ferroportina.

La transferrina transporta hierro hacia sitios donde se necesita

El hierro libre es en extremo tóxico debido a su capacidad para catalizar la formación de radicales libres de oxígeno perjudiciales,

FIGURA 50–4 Transporte de hierro no hem en enterocitos. Una ferrirreductasa luminal, el citocromo b duodenal (Dcytb) reduce el hierro férrico a la forma ferrosa. El hierro ferroso es transportado hacia el enterocito por medio del transportador de metal divalente-1 (DMT1). Dentro del enterocito, el hierro es almacenado como ferritina o transportado hacia afuera de la célula, a través de la membrana basolateral, por la ferroportina (Fp). El hierro ferroso es oxidado hacia su forma férrica por la ferroxidasa, hefaestina. El hierro férrico a continuación es unido por la transferrina en la sangre, que lo transporta hacia diversos sitios en el organismo. (Basada en Andrews NC: Forging a field: the golden age of iron biology. Blood 2008;112(2):219.)

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + OH^{\bullet} + OH^{-}$$

FIGURA 50–5 La reacción de Fenton. El hierro libre es en extremo tóxico porque puede catalizar la formación de radical hidroxilo ($OH^{\bullet}$) a partir de peróxido de hidrógeno (véase también el cap. 52). El radical hidroxilo es una especie transitoria pero altamente reactiva, y puede oxidar macromoléculas celulares, lo que da lugar a daño tisular.

por medio de la reacción de Fenton (**figura 50-5**). En sistemas biológicos, el hierro siempre está unido a proteínas para limitar la generación de radicales tóxicos. En el plasma, el hierro se encuentra estrechamente unido a la proteína plasmática, **transferrina** (**Tf**), que desempeña un papel fundamental en el transporte de hierro por todo el cuerpo hacia sitios donde se necesita. Es una globulina β_1 con una masa molecular de aproximadamente 76 kDa. Es una glucoproteína y se sintetiza en el hígado. Transporta hierro en la circulación hacia sitios donde se requiere (p. ej., la médula ósea). Tiene dos sitios de unión de afinidad alta para hierro Fe^{3+}. La transferrina, cuando está unida a dos átomos de hierro, se llama **holotransferrina** (**Tf-Fe**). La concentración de Tf en el plasma es de aproximadamente 300 mg/dl. Esta cantidad de transferrina puede unirse a un total de alrededor de 300 μg de hierro (por decilitro de plasma). Esto representa la **capacidad total de unión a hierro** (**TIBC**) del plasma. En circunstancias normales, la transferrina está **saturada** alrededor de **30%** con hierro. La saturación de transferrina disminuye a menos de 16% durante deficiencia grave de hierro, y puede aumentar a más de 45% en estados de sobrecarga de hierro.

La glucosilación de la transferrina está alterada en **trastornos congénitos de la glucosilación** (cap. 47) y en pacientes con **alcoholismo crónico**, lo que da lugar a incremento de la concentración circulante de **transferrina deficiente en carbohidrato** (**CDT**). La CDT puede medirse mediante enfoque isoeléctrico (IEF), y se usa como un marcador de alcoholismo crónico.

El ciclo de la transferrina ayuda a la captación celular de hierro

El **receptor de transferrina 1** (**TfR1**) está presente sobre la superficie de casi todas las células, en especial precursores eritroides en la médula ósea. La transferrina se une a estos receptores y es internalizada mediante endocitosis mediada por receptor (de modo similar a los receptores de LDL descritos en el cap. 25). El pH ácido dentro del endosoma tardío hace que el hierro se disocie de la transferrina (Tf). El hierro disociado abandona el endosoma por medio del DMT1 para entrar al citoplasma. A diferencia del componente proteínico de la LDL, la apoTf (Tf sin hierro unido a ella) no es degradada dentro del endosoma. En lugar de eso, permanece asociada con su receptor y regresa a la membrana plasmática. A continuación puede disociarse de su receptor, volver a entrar al plasma y captar más hierro para ser llevado a las células. Esto se llama **ciclo de la transferrina** (**figura 50-6**).

El **receptor de transferrina 2** (**TfR2**) se expresa principalmente en la superficie de hepatocitos, y en las células de las criptas del intestino delgado. Tiene afinidad baja por la Tf-Fe, y no parece estar involucrado en la captación de hierro por células. Desempeña un papel en la detección de reservas de hierro corporales en asociación con otras proteínas (véase más adelante).

El hierro en eritrocitos senescentes es reciclado por macrófagos

En circunstancias normales los eritrocitos tienen un lapso de vida de aproximadamente 120 días. Los eritrocitos senescentes o dañados son fagocitados por macrófagos del sistema reticuloendotelial (RES) presentes en el bazo y el hígado. Alrededor de 200 mil millones de eritrocitos (en aproximadamente 40 ml de sangre) son catabolizados cada día de esta manera. Dentro del macrófago, el hem derivado de hemoglobina es desintegrado mediante la **hem oxigenasa**, lo cual lo convierte en biliverdina. Se liberan monóxido de carbono y hierro como subproductos. El hierro liberado a partir del hem es exportado desde la vesícula fagocítica en el macrófago por la **NRAMP 1** (proteína de macrófago asociada con resistencia natural 1), un transportador homólogo al DMT1. Después es transportado hacia la circulación por medio de la ferroportina en la membrana plasmática del macrófago (**figura 50-7**). Por ende, la ferroportina desempeña un papel fundamental, no sólo en la absorción de hierro en el intestino, sino también en la liberación de hierro desde macrófagos. La **ceruloplasmina** (véase más adelante) es una proteína plasmática que contiene cobre, sintetizada en el hígado. Tiene actividad de ferroxidasa. La ceruloplasmina se requiere para la oxidación de Fe^{2+} hacia Fe^{3+}. El Fe^{3+} a continuación es unido a transferrina en la sangre. El hierro liberado a partir de macrófagos de esta manera (alrededor de 25 mg por día) es reciclado y forma la principal fuente de hierro para el organismo. En comparación, la absorción intestinal de hierro contribuye con sólo 1 a 2 mg de las necesidades de hierro diarias del cuerpo.

La ferritina almacena hierro en células

En circunstancias normales, la **ferritina** almacena el hierro excesivo en diversos tejidos, y constituye alrededor de 1 g del contenido de hierro corporal total. La ferritina tiene una masa molecular de aproximadamente 440 kDa. Está compuesta de 24 subunidades, que rodean 3 000 a 4 500 átomos férricos. Las subunidades pueden ser de tipo H (pesado) o L (ligero). La subunidad H posee actividad de peroxidasa que se requiere para la carga de hierro de ferritina. La función de la subunidad L no se conoce con claridad, pero se propone que desempeña un papel en la nucleación de ferritina y la estabilidad de la misma. Normalmente hay una pequeña cantidad de ferritina en el plasma humano (50 a 200 μg/dl) proporcional a las reservas totales de hierro en el cuerpo. De este modo, se considera que la concentración plasmática de ferritina es un **indicador de las reservas corporales de hierro**. Sin embargo, se desconoce si la ferritina en el plasma se deriva de células dañadas o es secretada activamente por las células.

La **hemosiderina** es una molécula poco definida, y parece ser una forma parcialmente degradada de ferritina que contiene hierro. Puede detectarse en tejidos, en condiciones de sobrecarga de hierro (**hemosiderosis**), mediante tinciones histológicas (p. ej., azul de Prusia).

La homeostasis del hierro intracelular está estrechamente regulada

Las síntesis de TfR1 y ferritina están recíprocamente enlazadas al contenido intracelular de hierro. Cuando la concentración de

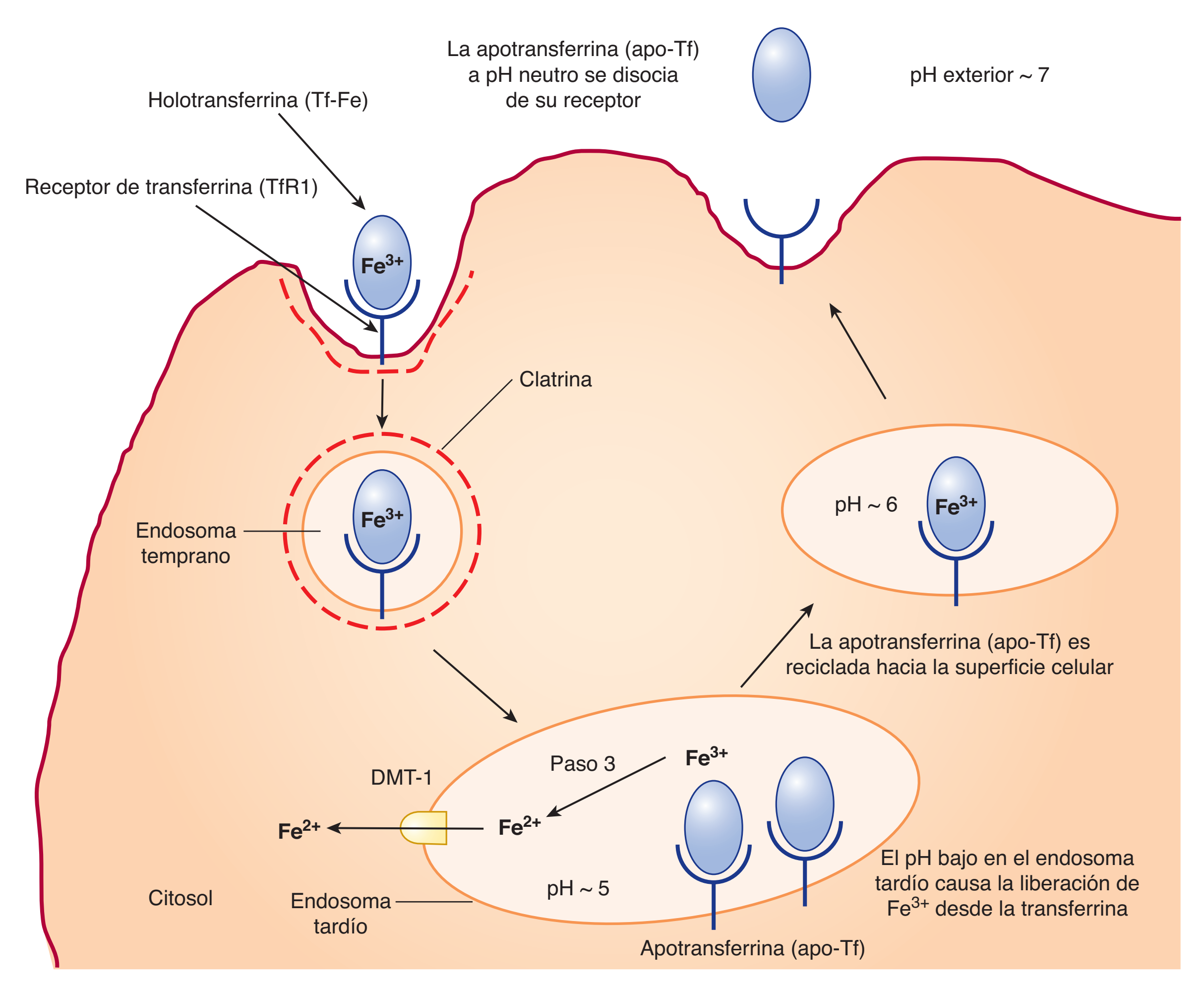


FIGURA 50–6 **El ciclo de la transferrina.** La holotransferrina (Tf-Fe) se une al receptor de transferrina 1 (TfR1) presente en hoyuelos cubiertos con clatrina en la superficie celular. El complejo de TfR1-Tf-Fe es objeto de endocitosis, y las vesículas endocíticas se fusionan para formar endosomas tempranos. Los endosomas tempranos maduran hacia endosomas tardíos, que tienen un pH ácido en su interior. El pH bajo causa liberación de hierro desde sus sitios de unión en la transferrina. La apotransferrina (apo-Tf) permanece unida al TfR1. El hierro férrico es convertido en su forma ferrosa por la ferrirreductasa, paso 3. A continuación el hierro ferroso es transportado hacia el citosol por medio del DMT1. El complejo de TfR1-apo-Tf es reciclado de regreso hacia la superficie celular. En la superficie celular la apo-Tf es liberada del TfR1. El TfR1 posteriormente se une a nueva Tf-Fe. Esto completa el ciclo de la transferrina. (Basada en la figura 17-48 en Lodish H et al.: *Molecular Cell Biology*, 6th ed. WH Freeman, 2008.)

hierro es alta, se sintetiza ferritina para almacenar hierro y, puesto que no se requiere captación adicional de hierro, se inhibe la síntesis de TfR1. Por el contrario, cuando la concentración de hierro es baja, no se sintetiza ferritina, mientras que el TfR1 está a disposición para promover la captación de hierro a partir de transferrina en la sangre.

Se han elucidado los mecanismos involucrados en la regulación de las síntesis de ferritina y TfR1 (**figura 50-8**). Esto se desencadena por regulación de la estabilidad de los mRNA que codifican para ferritina y TfR1. Dichos mRNA contienen **elementos de respuesta al hierro** (**IRE**) que forman asas en horquilla en sus regiones no traducidas (UTR) 5′ y 3′, respectivamente. Los IRE son unidos por **proteínas reguladoras de hierro** (**IRP**). Las IRP son sensibles a la concentración intracelular de hierro, y son inducidas por concentración baja. Sólo se unen a IRE cuando la concentración intracelular de hierro es baja. La unión de IRP al IRE en la UTR 3′ de mRNA que codifica para TfR1 estabiliza dicho mRNA, lo que aumenta la síntesis de TfR1 y la expresión del mismo sobre la superficie celular. Por otro lado, la unión de IRP al IRE en la UTR 5′ de mRNA que codifica para ferritina bloquea la traducción de esta última. De modo similar, en ausencia de unión de IRP a IRE (lo que sucede en presencia de concentración alta de hierro), se facilita la traducción de mRNA que codifica para ferritina, y el mRNA que codifica para TfR1 es rápidamente degradado. El resultado neto es que, cuando la concentración intracelular de hierro es alta, se sintetiza ferritina, no así TfR1, y cuando la concentración intracelular de hierro es baja, se sintetiza TfR1, no así ferritina. Éste es un ejemplo clásico de control de expresión de proteínas en el ámbito traduccional.

La hepcidina es el principal regulador de la homeostasis sistémica de hierro

La **hepcidina** es una proteína que se sabe que desempeña un papel fundamental en la homeostasis de hierro en el organismo. Se sintetiza en el hígado como una proteína precursora de 84 aminoácidos (prohepcidina). La prohepcidina es dividida para generar hepcidina bioactiva, que es un péptido de 25 aminoácidos. **La hepcidina se une al exportador de hierro celular**, **ferroportina**, **y desencadena su internalización y degradación**.

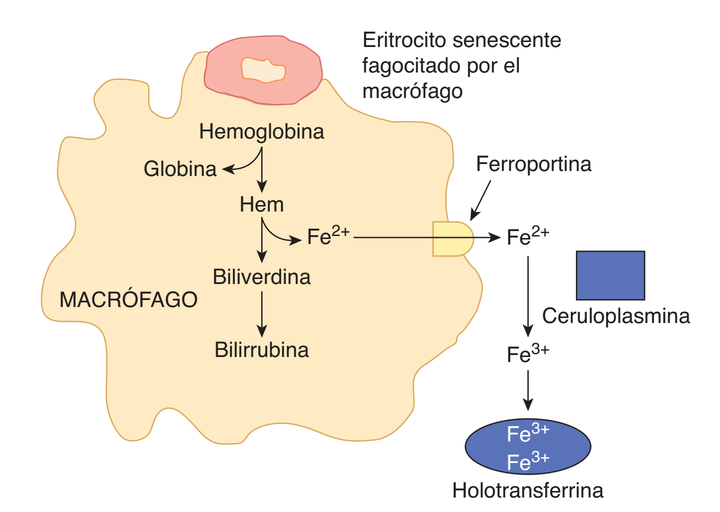


FIGURA 50–7 Reciclamiento de hierro en macrófagos. Los eritrocitos senescentes son fagocitados por macrófagos. La hemoglobina es degradada y el hierro es liberado desde el hem por la acción de la enzima hem oxidasa. A continuación, el hierro, en la forma ferrosa, es transportado hacia fuera del macrófago mediante la ferroportina (Fp). En el plasma, es oxidado hacia la forma férrica por la ceruloplasmina antes de unión a transferrina (Tf). El hierro circula en la sangre altamente unido a Tf.

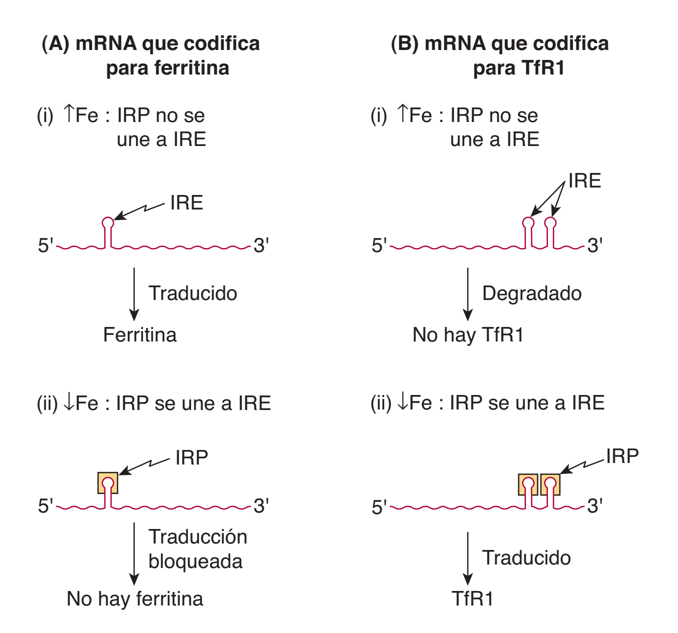


FIGURA 50–8 Representación esquemática de la relación recíproca entre la síntesis de ferritina y el receptor de transferrina (TfR1). El mRNA que codifica para ferritina está representado a la izquierda del diagrama, y el mRNA que codifica para TfR1, a la derecha. A concentraciones altas de hierro, el hierro unido a la IRP evita que la proteína se una a los IRE en uno u otro tipo de mRNA. El mRNA que codifica para ferritina es capaz de ser traducido en estas circunstancias, y se sintetiza ferritina. Por otro lado, cuando la IRP es incapaz de unirse al IRE en el mRNA que codifica para TfR1, ese mRNA es degradado. En contraste, a concentraciones bajas de hierro, la IRP es capaz de unirse a los IRE en ambos tipos de mRNA. En el caso del mRNA que codifica para ferritina, esto evita que sea traducido. Por ende, no se sintetiza ferritina. En el caso del mRNA que codifica para TfR1, la unión de la IRP evita que se degrade el mRNA, es traducido, y se sintetiza TfR1. IRP, proteína reguladora de hierro; IRE, elemento de respuesta al hierro.

Así, la hepcidina disminuye la absorción de hierro en el intestino (lo que produce un "bloqueo de mucosa") y evita también el reciclado de hierro desde macrófagos (**figura 50-9**). Estos efectos dan lugar a una reducción de la concentración de hierro circulante (hipoferremia). Además, disminuye la transferencia placentaria de hierro (que no se muestra en la figura 50-9). Cuando la concentración plasmática de hierro es alta, aumenta la síntesis hepática de hepcidina, lo que disminuye la absorción de hierro y el reciclado del mismo por macrófagos. Sucede lo contrario cuando la concentración plasmática de hierro es baja.

La expresión de hepcidina en el hígado es un proceso altamente regulado, muchos aspectos de aquélla todavía se están investigando. La expresión de hepcidina está regulada por la disponibilidad sistémica de hierro, la eritropoyesis, la inflamación y la hipoxia, entre otras señales. Estudios de pacientes con hemocromatosis hereditaria (descrita más adelante y en el caso 10 en el cap. 57) han proporcionado gran cantidad de información sobre la regulación de la hepcidina.

Los hepatocitos tienen un "complejo detector de hierro" sobre su superficie. Hay varias proteínas que constituyen este complejo (**figura 50-10**); éstas incluyen la **proteína HFE** (que más comúnmente está mutada en la hemocromatosis hereditaria), **TfR1**, **TfR2** y **hemojuvelina** (**HJV**). La proteína HFE es una molécula tipo complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase 1, la cual se expresa sobre la superficie celular, unida a la **β_2-microglobulina** (un componente de las moléculas del MHC clase 1, que no se muestra en la figura 50-10) y TfR1. La HFE se une al TfR1 en un sitio que se superpone con su sitio de unión para la holotransferrina (Tf-Fe). Por consiguiente, la Tf-Fe compite con la HFE por unión al TfR1. Cuando es desplazada del TfR1 por la Tf-Fe (lo que sucede cuando la concentración de Tf-Fe es alta), la HFE se une al TfR2, que también se expresa sobre la superficie de hepatocitos. El complejo de HFE-TfR2 es más estabilizado por unión a Tf-Fe. Este complejo desencadena una cascada de emisión de señales intracelular que finalmente da por resultado regulación ascendente de la expresión del gen que codifica para hepcidina (*HAMP*). Los papeles cruciales de la HFE, la HJV y el TfR2 en la regulación de la hepcidina se demuestran por el hecho de que todas las mutaciones en sus genes (como las mutaciones en *HAMP*) se caracterizan por concentración circulante baja de hepcidina y sobrecarga de hierro.

Las **proteínas morfogenéticas óseas** (**BMP**), **en especial la BMP6**, desempeñan un papel importante en la regulación de la expresión basal de hepcidina. Las BMP actúan mediante mecanismos que son distintos de la HFE, pero hay considerable comunicación recíproca entre estas vías. La concentración de BMP está regulada por el hierro mediante mecanismos que todavía no se han elucidado por completo. La BMP se une a sus receptores de superficie celular (BMPR). Esta unión es facilitada por la HJV, que actúa como un correceptor de BMP. La activación del complejo de BMPR-HJV causa fosforilación de SMAD (proteínas emisoras de señales intracelulares) (figura 50-10), lo que después dará por resultado activación transcripcional de hepcidina.

La concentración de hepcidina también está regulada por **señales eritropoyéticas**. Por ejemplo, se sabe que la concentración de hepcidina está regulada en dirección descendente en la talasemia β mayor, que se caracteriza por eritropoyesis ineficaz y sobrecarga de hierro. Recientemente, se ha mostrado que el **factor de diferenciación del crecimiento 15** (**GDF15**) y **la gas-**

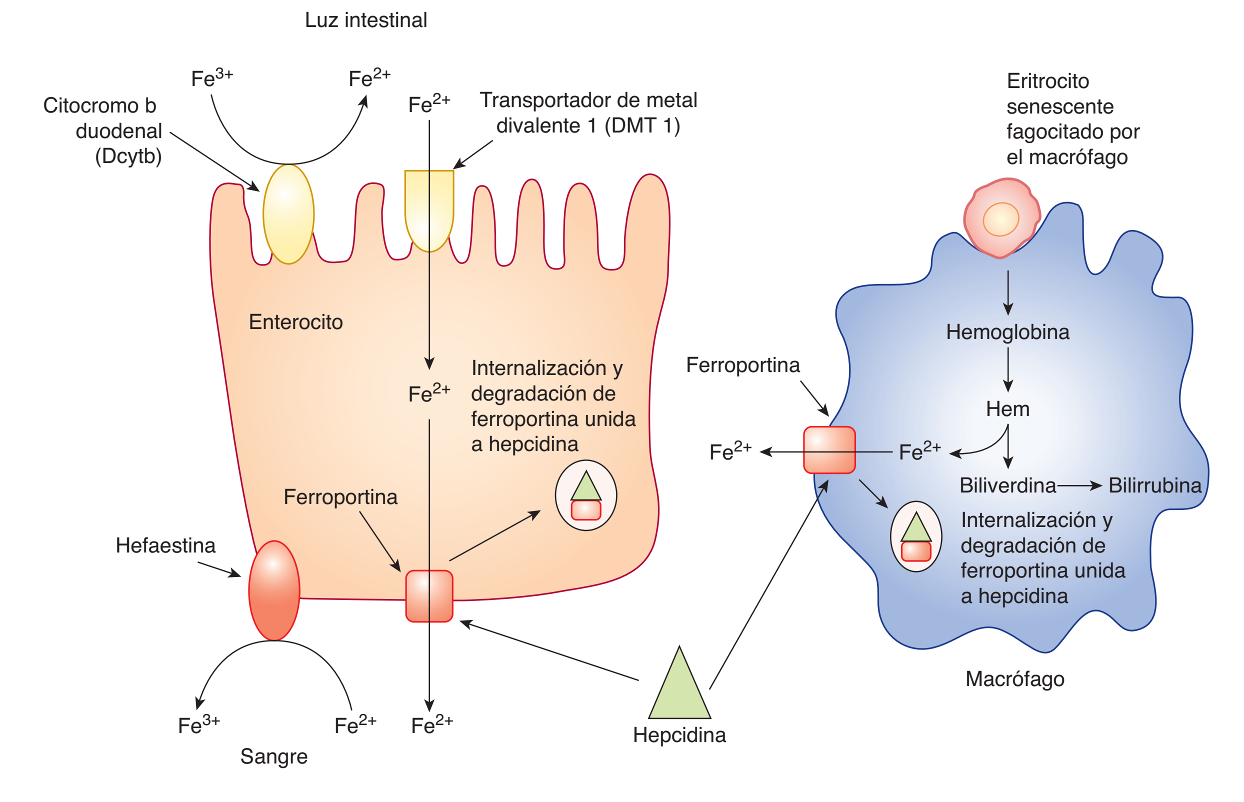


FIGURA 50–9 Papel de la hepcidina en la regulación sistémica de hierro. La hepcidina se une a la ferroportina expresada sobre la superficie de enterocitos y macrófagos, y desencadena la internalización y degradación de la misma. Esto disminuye la absorción de hierro desde el intestino e inhibe la liberación de hierro desde macrófagos, lo que lleva a hipoferremia. (Basada en Andrews NC: Forging a field: the golden age of iron biology. Blood 2008;112(2): 219.)

trulación torcida 1 (**TWSG1**) son moléculas cruciales secretadas por eritroblastos. Éstas producen **regulación descendente** de la expresión hepática de hepcidina en la talasemia β.

Se sabe que la **inflamación** induce la expresión de hepcidina. La **interleucina-6** (**IL-6**), una citocina inflamatoria, emite señales por medio de la vía JAK-STAT (cinasa Janus-transductor de señal y activador de la transcripción) para mediar este efecto (figura 50-10). La anemia que se asocia con inflamación crónica (**anemia de la inflamación, o AI**) probablemente se debe a regulación ascendente de hepcidina mediada por inflamación. La AI se manifiesta como una anemia microcítica, hipocrómica, resistente a los complementos de hierro. Además de los factores antes mencionados, también se sabe que la **hipoxia** induce hepcidina, y este efecto está mediado por estabilización de los factores inducibles por hipoxia 1 y 2 (HIF-1 y HIF-2).

La deficiencia de hierro es altamente prevalente

La deficiencia de hierro es en extremo común en muchas partes del mundo, especialmente en países en desarrollo. Hay **varias causas** para la deficiencia de hierro. La ingestión de hierro disminuida en la dieta y la malabsorción son las causas más comunes en países en desarrollo. Las mujeres premenopáusicas están más propensas a presentar deficiencia de hierro porque tienen requerimientos diarios más altos de este último debido a pérdida de sangre durante la menstruación. Las pérdidas crónicas de sangre, debidas a sangrado gastrointestinal o menstruación excesiva, también son causas comunes de deficiencia de hierro.

La **aparición** de anemia por deficiencia de hierro progresa por tres etapas: balance negativo de hierro, eritropoyesis deficiente en hierro y, finalmente, anemia por deficiencia de hierro. El **balance negativo de hierro** es la etapa inicial, en la cual la absorción intestinal de hierro es insuficiente para satisfacer las demandas del organismo. Esto da lugar a movilización de las reservas corporales de hierro para satisfacer los requerimientos. Esto lleva a disminución progresiva de las reservas de hierro. A esta etapa, todos los análisis de laboratorio resultan normales, excepto por ferritina sérica baja, que, como se describió, es un marcador de las reservas corporales de hierro. Si persiste esta situación, las reservas de hierro se agotan, y la concentración sérica de ferritina disminuye por debajo de 15 μg/dl. En esta etapa, se observa aumento de la concentración de transferrina en sangre, lo que da lugar a un incremento de la **TIBC**. Empero, la **saturación de transferrina** disminuye, y puede caer por debajo de 20%. La síntesis de hemoglobina está alterada. Ésta es la etapa de **eritropoyesis deficiente en hierro**. Si la deficiencia de hierro no se corrige a esta etapa, la concentración de hemoglobina en la sangre empieza a disminuir gradualmente, lo que da lugar a la etapa final de **anemia por deficiencia de hierro**. Esta etapa se caracteriza por un **cuadro sanguíneo hipocrómico**, **microcítico**. Los pacientes típicamente se presentan con fatiga, palidez y reducción de la capacidad para hacer ejercicio. En el **cuadro 50-4** se resumen los cambios en análisis de laboratorio comunes a diversas etapas de la aparición de anemia por deficiencia de hierro.

La concentración de **protoporfirina en los eritrocitos** está aumentada cuando hay deficiencia de hierro. La presencia de protoporfirina en los eritrocitos refleja alteración de la incorpo-

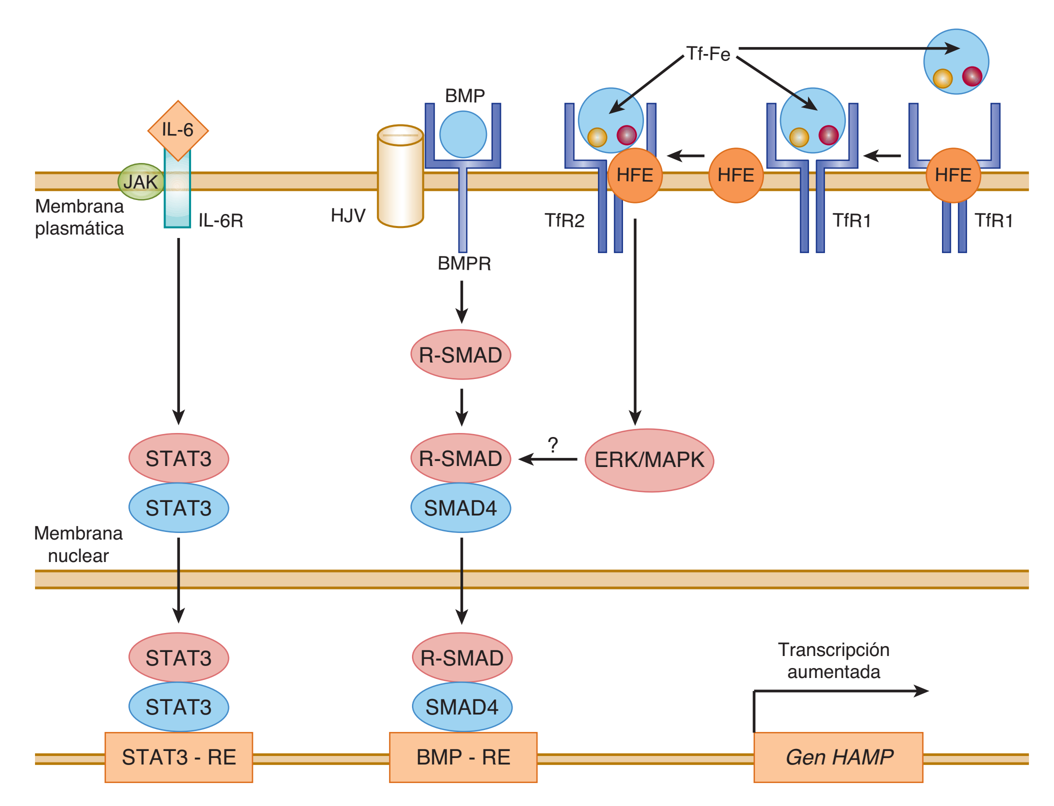


FIGURA 50–10 **Regulación de la expresión del gen que codifica para hepcidina.** La Tf-Fe (holotransferrina) compite con la HFE por unión al TfR1. La concentración alta de Tf-Fe desplaza HFE desde el sitio de unión en el TfR1. La HFE desplazada se une al TfR2 junto con Tf-Fe para emitir señales mediante la vía de ERK/MAPK para inducir hepcidina. La BMP se une a su receptor BMPR y HJV (correceptor) para activar R-SMAD. R-SMAD se dimeriza con SMAD4, se transloca hacia el núcleo donde se une al BMP-RE, lo que da lugar a activación transcripcional de hepcidina como se muestra. La IL-6, que es un biomarcador de inflamación, se une a su receptor de superficie celular y activa la vía JAK-STAT. STAT3 se transloca hacia el núcleo donde se une a su elemento de respuesta (STAT-RE) sobre el gen que codifica para hepcidina para inducirlo. BMP-RE, elemento de respuesta a BMP; BMP, proteína morfogenética ósea; BMPR, receptor de proteína morfogenética ósea; ERK-MAPK, cinasa regulada por señal extracelular/proteína cinasa activada por mitógeno; *HAMP*, gen que codifica para péptido antimicrobiano de hepcidina (hepcidina); HJV, hemojuvelina; IL-6, interleucina 6; IL-6R, receptor de interleucina-6; JAK, cinasa asociada a Janus; SMAD, proteína relacionada con Sma y MAD (Mothers Against Decapentaplegic); STAT, transducción de señal y activador de transcripción; STAT3-RE, elemento de respuesta a STAT 3; TfR1, receptor de transferrina 1; TfR2, receptor de transferrina 2. (Redibujada de Hentz MW, Muckenthaler MU, Gali B et al.: Two to tango: regulation of mammalian iron metabolism. Cell 2010;142:24.)

ración de hierro hacia el anillo IX de la protoporfirina, catalizada por la ferroquelatasa. También se considera que la **proteína receptora de transferrina sérica** o el **receptor de transferrina soluble** (**sTfR**) es un marcador útil de deficiencia de hierro. En circunstancias normales, el TfR1 está altamente expresado en la superficie de células eritroides, y una cierta proporción es liberada hacia la circulación por división proteolítica. Esto se denomina sTfR. La concentración sérica aumentada de sTfR refleja incremento de la expresión de TfR1 sobre la superficie de células eritroides durante deficiencia de hierro. La estimación de la concentración sérica de sTfR es en especial útil para distinguir entre anemia debida a deficiencia de hierro y la que se debe a inflama-

CUADRO 50–4 **Cambios en varias pruebas de laboratorio usadas para valorar anemia por deficiencia de hierro**

Parámetro	Normal	Balance de hierro negativo	Etritropoyesis deficiente de hierro	Anemia por deficiencia de hierro
Ferritina sérica (μg/dl)	50–200	Disminuido <20	Disminuida <15	Disminuida <15
Capacidad de unión del hierro total (TIBO) (μg/dl)	300–360	Ligeramente aumentado >360	Aumentada >380	Aumentada >400
Hierro sérico (μg/dl)	50–150	Normal	Disminuida <50	Disminuida <30
Saturación de transferrina (%)	30–50	Normal	Disminuida <20	Disminuida <10
Protopofirina eritrocitaria (μg/dl)	30–50	Normal	Aumentada	Aumentada
Receptor de transferrina soluble (μg/L)	4–9	Aumentado	Aumentada	Aumentada
Morfología de eritrocitos	Normal	Normal	Normal	Microcítica hipocrómica

Modificado, con autorización, de la figura 98-2, página 630, de *Harrison´s Principles of Internal Medicine,* 17th ed. Fauci AS *et al*. (editores). McGraw-Hill, 2008.

CUADRO 50–5 Estados de sobrecarga de hierro

Hemocromatosis hereditaria
• Hemocromatosis relacionada con HFE (tipo 1)
• Hemocromatosis no relacionada con HFE ◦ Hemocromatosis juvenil (tipo 2) ▪ Mutación de hepcidina (tipo 2A) ▪ Mutación de hemojuvelina (tipo 2B) ◦ Mutación de receptor de transferrina 2 (tipo 3) ◦ Mutación de ferroportina (tipo 4)
Hemocromatosis secundaria
• Anemia caracterizada por eritropoyesis ineficaz (p. ej., talasemia mayor)
• Transfusiones sanguíneas repetidas
• Terapia con hierro por vía parenteral
• Sobrecarga de hierro en la dieta (siderosis bantú)
Enfermedades diversas asociadas con sobrecarga de hierro
• Hepatopatía alcohólica
• Esteatohepatitis no alcohólica
• Infección por virus de la hepatitis C

ción crónica. Está alta en la primera, y permanece dentro del rango de referencia en este último estado. La ferritina sérica no es útil en esta situación porque, al ser una proteína de fase aguda, aumenta durante la inflamación, incluso en presencia de anemia.

La hemocromatosis hereditaria se caracteriza por sobrecarga de hierro

Las condiciones de sobrecarga de hierro, también llamadas hemocromatosis, se caracterizan por absorción intestinal aumentada de hierro, lo que da por resultado incremento de las reservas corporales totales de hierro. El término **hemosiderosis** se usa para indicar la presencia de hierro teñible en los tejidos, que a menudo es un dato característico de los estados de sobrecarga de hierro.

La sobrecarga de hierro puede ser hereditaria o secundaria (**cuadro 50-5**). La **hemocromatosis hereditaria** se origina más a menudo por mutaciones en el gen *HFE*. Formas más raras de esta enfermedad pueden surgir por mutaciones en los genes que codifican para hepcidina (*HAMP*), TfR2, HJV y ferroportina. La **sobrecarga de hierro secundaria** por lo general se asocia con eritropoyesis ineficaz, como se observa en los síndromes de talasemia. Las transfusiones de sangre repetidas también pueden dar lugar a sobrecarga progresiva de hierro. En el caso 10, capítulo 57, se comentan más detalles de las causas, la patogenia y las manifestaciones clínicas de la hemocromatosis hereditaria.

La ceruloplasmina se une al cobre, y las concentraciones bajas de esta proteína plasmática muestran vínculo con enfermedad de Wilson

La ceruloplasmina (~160 kDa) es una α_2-globulina. Es de color azul debido a su alto contenido de cobre, y transporta 90% del cobre presente en el plasma. Cada molécula de ceruloplasmina se une a seis átomos de cobre de modo muy estrecho, de manera que el cobre no es fácilmente intercambiable. La **albúmina** transporta el otro ~10% del cobre plasmático, pero se une al metal de modo menos estrecho que la ceruloplasmina. De esta manera, la albúmina dona su cobre a los tejidos con mayor facilidad que la ceruloplasmina, y parece tener mayor importancia que esta última en el transporte de cobre en el organismo humano. La ceruloplasmina muestra una actividad de **oxidasa** dependiente de cobre, pero no se ha esclarecido su importancia fisiológica además de la posible participación en la oxidación de Fe^{2+} en la transferrina hacia Fe^{3+}. La cantidad de ceruloplasmina en el plasma está disminuida en presencia de enfermedad del hígado; se encuentran cifras bajas en la **enfermedad de Wilson** (degeneración hepatolenticular), una enfermedad debida a metabolismo anormal del cobre. Para esclarecer la descripción de está enfermedad, primero se considerará el **metabolismo del cobre** en el cuerpo humano, y luego la **enfermedad de Menkes**, otra enfermedad que comprende metabolismo anormal del cobre.

CUADRO 50–6 Algunas enzimas importantes que contienen cobre

• Amina oxidasa
• Superóxido dismutasa dependiente de cobre
• Citocromo oxidasa
• Tirosinasa

El cobre es un cofactor para ciertas enzimas

El **cobre** es un oligoelemento esencial. Se requiere en la dieta porque es el cofactor metálico para diversas enzimas (**cuadro 50-6**). El cobre desempeña funciones importantes en la respiración celular (citocromo *c* oxidasa), la homeostasis del hierro (ceruloplasmina), la formación de melanina (tirosinasa), producción de neurotransmisor (diversas enzimas), síntesis de tejido conjuntivo (lisil oxidasa) y protección contra oxidantes (p. ej., superóxido dismutasa). Acepta y dona electrones, y participa en reacciones que incluyen dismutación, hidroxilación y oxigenación. De cualquier modo, el **cobre excesivo** puede originar problemas porque puede oxidar proteínas y lípidos, unirse a ácidos nucleicos, e incrementar la producción de radicales libres. Así, es importante que haya mecanismos que mantengan dentro de límites normales la cantidad de cobre en el organismo. El cuerpo del adulto normal contiene unos 100 mg de cobre, localizado en su mayor parte en el hueso, el hígado, los riñones y el músculo. La ingestión diaria de cobre es de alrededor de 2 a 4 mg; aproximadamente 50% se absorbe en el estómago y en la parte alta del intestino delgado, y el resto se excreta en las heces. El cobre se transporta hacia el hígado **unido a albúmina**, es captado por las células hepáticas, y parte de él se excreta en la bilis. El cobre también abandona el hígado fijo a **ceruloplasmina**, que se sintetiza en ese órgano.

Las concentraciones hísticas de cobre y de algunos otros metales están reguladas en parte mediante metalotioneínas

Las **metalotioneínas** son un grupo de proteínas pequeñas (alrededor de 6.5 kDa), que se encuentran en el citosol de las células,

en especial del hígado, los riñones y el intestino. Tienen un alto contenido de cisteína, y pueden **unirse a cobre**, **cinc**, **cadmio** y **mercurio**. Los grupos SH de la cisteína participan en la unión de los metales. La ingestión aguda (p. ej., por medio de inyección) de cobre y de algunos otros metales aumenta la cantidad (inducción) de estas proteínas en los tejidos, al igual que la administración de ciertas hormonas o citocinas. Estas proteínas pueden funcionar para almacenar los metales anteriores en una forma no tóxica, y participan en su metabolismo general en el organismo. El secuestro de cobre también aminora la cantidad de este metal disponible para generar radicales libres.

La enfermedad de Menkes se debe a mutaciones del gen que codifica para una ATPasa tipo P de unión a cobre

La **enfermedad de Menkes** (enfermedad del pelo "ensortijado" o "acerado") es un trastorno del metabolismo del cobre. Está ligada a X; afecta sólo a lactantes varones; daña el sistema nervioso, el tejido conjuntivo y la vasculatura, y regularmente es mortal durante la lactancia. Es importante el diagnóstico temprano, porque las inyecciones de cobre pueden ser eficaces si la enfermedad se trata con prontitud. En 1993 se informó que la base de la enfermedad de Menkes eran mutaciones del gen (el gen *ATP7A*) que codifica para una **ATPasa tipo P de unión a cobre** (la proteína ATP7A). Despierta interés que la enzima mostró similitud estructural con ciertas proteínas de unión a metal en microorganismos. Se cree que esta ATPasa se encarga de dirigir el flujo de salida de cobre desde las células. Cuando queda alterado por mutación, el cobre no se moviliza de manera normal desde el intestino, en el cual se acumula, al igual que en varias otras células y tejidos, de los cuales no puede salir. Pese a la acumulación de cobre, las actividades de muchas enzimas dependientes de cobre están reducidas, quizá debido a un defecto de su incorporación hacia las apoenzimas. El hígado normal expresa muy poco de la ATPasa, lo cual explica la ausencia de afección hepática en la enfermedad de Menkes. Esta investigación condujo a sugerir que el hígado podría contener una ATPasa de unión a cobre diferente, que podría participar en la causa de la enfermedad de Wilson. Como se describe más adelante, esto resultó ser así.

La enfermedad de Wilson también se debe a mutaciones en un gen que codifica para una ATPasa tipo P de unión a cobre

La **enfermedad de Wilson** es una enfermedad genética en la cual el cobre no se excreta en la bilis y se acumula en el hígado, el cerebro, los riñones y los eritrocitos. Puede considerarse una incapacidad para mantener un balance de cobre cercano a cero, lo que causa **toxicosis por cobre**. El incremento del cobre en las células hepáticas parece inhibir el acoplamiento del mismo a la apoceruloplasmina, y lleva a cifras bajas de ceruloplasmina en el plasma. Conforme se acumula el cobre, pueden sobrevenir anemia hemolítica, hepatopatía crónica (cirrosis, hepatitis), y un síndrome neurológico debido a acumulación de cobre en los ganglios basales y otros centros. Un dato clínico frecuente es el **anillo de Kayser-Fleischer**, un anillo de pigmento de color verde o dorado alrededor de la córnea debido a depósito de cobre en la membrana de Descemet. En el **cuadro 50-7** se listan los principales análisis de laboratorio del metabolismo del cobre. Si se sospecha enfermedad de Wilson, debe realizarse **una biopsia hepática**; un valor de cobre en el hígado de más de 250 µg/g de peso seco, junto con una concentración plasmática de ceruloplasmina de menos de 20 mg/dl, es diagnóstica.

CUADRO 50–7 Principales análisis de laboratorio empleados en la investigación de enfermedades del metabolismo del cobre

Análisis	Rango normal en el adulto
Cobre sérico	10 a 22 µmol/L
Ceruloplasmina	200 a 600 mg/L
Cobre urinario	<1 µmol/24 h
Cobre hepático	20 a 50 µg/g de peso seco

Fuente: Basado en Gaw A *et al.*: *Clinical Biochemistry.* Churchill Livingstone, 1995. Copyright © 1995 Elsevier Ltd. Reimpreso con autorización de Elsevier.

La causa de la enfermedad de Wilson también se reveló en 1993, cuando se reportó que dependía de diversas mutaciones en un gen que codifica para una **ATPasa tipo P de unión a cobre** (proteína ATP7B). Se estima que el gen (*ATP7B*) codifica para una proteína de 1 411 aminoácidos, que es muy homóloga al producto del gen afectado en la enfermedad de Menkes. De un modo que aún no se explica por completo, una ATPasa no funcional suscita excreción defectuosa de cobre hacia la bilis, una disminución de la incorporación de cobre hacia apoceruloplasmina, y la acumulación de cobre en el hígado y después en otros órganos, como el cerebro. El tratamiento para enfermedad de Wilson consta de una dieta con bajo contenido de cobre, junto con administración de por vida de **penicilamina**, que produce quelación del cobre, se excreta en la orina y, de esta manera, elimina del cuerpo el exceso de este mineral.

Otra enfermedad que comprende la ceruloplasmina es la **aceruloplasminemia**. En este trastorno genético, las cifras de ceruloplasmina son bajas y, por consiguiente, su actividad de ferroxidasa es muy deficiente. Lo anterior da pie a fracaso de la liberación de hierro desde las células y éste se acumula en ciertas células del cerebro, los hepatocitos, y las células de los islotes pancreáticos. Los afectados muestran **signos neurológicos graves** y tienen diabetes mellitus. El uso de un agente quelante o la administración de plasma o concentrado de ceruloplasmina puede resultar beneficioso.

La deficiencia genética de α_1-antiproteinasa (α_1-antitripsina) se relaciona con enfisema y un tipo de enfermedad del hígado

La **α_1-antiproteinasa** (cerca de 52 kDa) se llamaba α_1-antitripsina, y este nombre se retiene aquí. Es una proteína de una sola cadena, de 394 aminoácidos, que contiene tres cadenas de oligosacárido, y es el principal componente (>90%) de la fracción α_1 del plasma humano. Se sintetiza en los hepatocitos y macrófagos, y es el principal **inhibidor de la serina proteasa** (**serpina**, o

A. Elastasa activa + α_1–AT → elastasa inactiva: complejo α_1–AT → no hay proteólisis de pulmón → no hay daño de tejido

B. Elastasa activa + α_1–AT ↓ o nula → elastasa activa → proteólisis de pulmón → daño hístico

FIGURA 50–11 Esquema que ilustra: (A) la desactivación normal de la elastasa por la α_1-antitripsina, y (B) la situación en la cual hay disminución considerable de la cantidad de α_1-antitripsina, lo que causa proteólisis por la elastasa y daño de tejido.

Pi) del plasma humano. Inhibe la tripsina, elastasa y algunas otras proteasas al formar complejos con ellas. Hay por lo menos 75 **formas polimórficas**, muchas de las cuales pueden separarse mediante electroforesis. El principal genotipo es el MM, y su producto fenotípico es PiM. Hay dos áreas de interés clínico en cuanto a la α_1-antitripsina. Una deficiencia de esta proteína tiene una participación en ciertos casos (alrededor de 5%) de **enfisema**. Esto sucede principalmente en individuos con el **genotipo ZZ**, que sintetizan PiZ, y en heterocigotos para PiSZ, de los cuales ambos secretan mucho menos proteína que los individuos PiMM. Se secreta una cantidad considerablemente menor de esta proteína en comparación con PiM. Cuando la cantidad de α_1-antitripsina es deficiente y los leucocitos polimorfonucleares aumentan en los pulmones (p. ej., durante neumonía), el individuo afectado carece de un mecanismo para restringir el daño proteolítico de los pulmones por proteasas como la elastasa (**figura 50-11**). Despierta considerable interés que una **metionina** particular (residuo 358) de la α-antitripsina participa en su unión a proteasas. El **tabaquismo** oxida esta metionina hacia sulfóxido de metionina y, de este modo, la inactiva. Como resultado, las moléculas afectadas de α_1-antitripsina ya no neutralizan proteasas. Esto es en particular devastador en sujetos (p. ej., fenotipo PiZZ) que ya tienen concentraciones bajas de α_1-antitripsina. El decremento adicional de esta última, desencadenado por fumar, ocasiona destrucción proteolítica incrementada del tejido pulmonar, lo que acelera la aparición de enfisema. La **administración de α_1-antitripsina por vía intravenosa** (terapia de aumento) se ha empleado como un adjunto en el tratamiento de enfisema debido a deficiencia de α_1-antitripsina. Se están haciendo intentos, usando las técnicas de ingeniería de proteínas, por reemplazar la metionina 358 por otro residuo que no quedaría sujeto a oxidación. Así, la α_1-antitripsina "mutante" resultante proporcionaría protección contra proteasas durante un periodo mucho más prolongado que la α_1-antitripsina natural. Se está intentando crear **terapia génica** para esta enfermedad. Un método es emplear un adenovirus (agente patógeno de las vías respiratorias) modificado en el cual se ha insertado el gen que codifica para α_1-antitripsina, luego se introduciría en las vías respiratorias (p. ej., por medio de un aerosol), con la esperanza de que las células epiteliales pulmonares expresaran el gen y secretaran α_1-antitripsina localmente. Experimentos en animales han indicado la viabilidad de este método.

La deficiencia de α_1-antitripsina también está implicada en un tipo de **enfermedad del hígado** (hepatopatía por deficiencia de α_1-antitripsina). En esta enfermedad, moléculas del **fenotipo ZZ** se acumulan y se agregan en las cisternas del retículo endoplásmico de los hepatocitos. La agregación se debe a la formación de **polímeros** de α_1-antitripsina mutante; los polímeros se forman por medio de una fuerte interacción entre un asa específica en una molécula y una hoja plegada β prominente en otra (polimerización de asa-hoja). Por mecanismos que no se entienden, sobreviene **hepatitis** con **cirrosis** consiguiente (acumulación de grandes cantidades de colágeno, lo que se traduce en fibrosis). Es posible que la administración de un péptido sintético que semeja la secuencia de asa pudiera inhibir la polimerización de asa-hoja. Las enfermedades como la deficiencia de α_1-antitripsina, en la cual la enfermedad celular es causada principalmente por la presencia de agregados de formas aberrantes de proteínas individuales, se han denominado **enfermedades conformacionales** (cap. 46). Casi todas parecen deberse a la formación de hojas β por proteínas inestables desde el punto de vista conformacional, lo que a su vez lleva a la formación de agregados. Otros miembros de este grupo de enfermedades incluyen la de Alzheimer, la de Parkinson, y la de Huntington.

Hoy, la enfermedad hepática grave por deficiencia de α_1-antitripsina puede tratarse con buenos resultados mediante **trasplante de hígado**. En el futuro, tal vez se haga posible la introducción del gen que codifica para α_1-antitripsina normal hacia hepatocitos, pero esto no detendría la producción de la proteína PiZ. En la **figura 50-12** se presenta un esquema de la causa de esta enfermedad.

La α_2-macroglobulina neutraliza muchas proteasas y dirige ciertas citocinas hacia tejidos

La **α_2-macroglobulina** es una glucoproteína plasmática grande (720 kDa) constituida de cuatro subunidades idénticas de 180 kDa. Comprende 8 a 10% de la proteína plasmática total en seres humanos. Aproximadamente 10% del **cinc** en el plasma se transporta por medio de la α_2-macroglobulina; el resto se transporta mediante la albúmina. La proteína se sintetiza en diversos tipos de célula, entre ellos monocitos, hepatocitos y astrocitos. Es el principal miembro de un grupo de proteínas plasmáticas que incluyen las proteínas del complemento C3 y C4. Estas proteínas

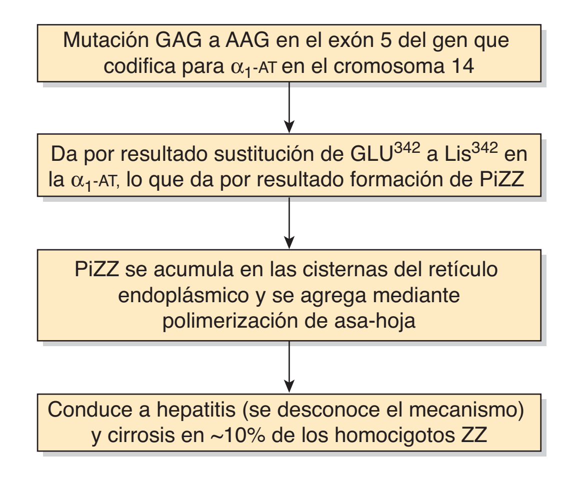


FIGURA 50–12 Esquema de la causa de enfermedad del hígado por deficiencia de α_1-antitripsina. La mutación mostrada causa formación de PiZZ (OMIM 107400). (α_1-AT, α_1-antitripsina.)

O H
AA_x – C – N – AA_y
N – H C=O
C=O H_2 H_2 N – H
Cis – C C – Gln
S – C
O
Cadena de proteína

FIGURA 50–13 Un enlace tiol éster cíclico interno, como se encuentra en la α_2-macroglobulina. AA_x y AA_y son aminoácidos vecinos para la cisteína y glutamina.

contienen un **enlace tiol éster cíclico interno** (formado entre un residuo cisteína y uno glutamina, **figura 50-13**) y por esta razón se ha designado la **familia de proteína plasmática tiol éster**. Este enlace es muy reactivo y está involucrado en algunas de las acciones biológicas de la α_2-macroglobulina.

La α_2-macroglobulina se une a muchas proteinasas y, por tanto, es un importante **inhibidor panproteinasa**. Los complejos de α_2-macroglobulina-proteinasa se eliminan con rapidez del plasma por medio de un receptor localizado en muchos tipos de célula. Más aún, la α_2-macroglobulina se une a muchas **citocinas** (factor de crecimiento derivado de plaquetas, TGF-β, etc.) y parece participar en la dirección de estas últimas hacia tejidos o células particulares. Una vez captadas por las células, las citocinas pueden disociarse de la α_2-macroglobulina, y luego ejercer diversos efectos sobre el crecimiento y la función de la célula. La unión de proteinasas y citocinas por α_2-macroglobulina comprende diferentes mecanismos que no se considerarán aquí.

La amiloidosis ocurre por el depósito de proteínas o fragmentos de proteínas en diversos tejidos

La **amiloidosis** es la acumulación de diversas proteínas fibrilares insolubles entre las células de los tejidos hasta un grado que afecta la función. La acumulación por lo general se debe a **incremento de la producción** de ciertas proteínas o **acumulación de formas mutadas** de otras proteínas (véase más adelante). Puede haber afección de uno o más órganos o tejidos, y el cuadro clínico depende de los sitios y la extensión del depósito de fibrillas de amiloide. Las fibrillas por lo general representan fragmentos proteolíticos de diversas proteínas plasmáticas, y poseen una **estructura en hoja plegada β**. El término "amiloidosis" es inadecuado, dado que originalmente se creyó que las fibrillas eran de naturaleza semejante al almidón.

La amiloidosis ahora en general se clasifica como AX, donde A representa amiloidosis y X la proteína en las fibrillas. No obstante, este sistema no se usará aquí. En el **cuadro 50-8** se muestra una **clasificación** simple de la amiloidosis. La amiloidosis **primaria** por lo general se debe a un trastorno de células plasmáticas monoclonal en el cual la proteína que se acumula es un fragmento de una **cadena ligera** (véase más adelante) de una inmunoglobulina. La amiloidosis **secundaria** regularmente sucede como consecuencia de infecciones crónicas o cáncer, y se debe a acumulación de productos de degradación de **amiloide sérico A** (SAA). La síntesis aumentada de SAA ocurre en estados inflamatorios crónicos debido a cifras altas de ciertas citocinas inflamatorias que estimulan al hígado para que produzca más de esta proteína. La amiloidosis **familiar** depende de acumulación de formas mutadas de ciertas proteínas plasmáticas, en particular **transtiretina** (cuadro 50-2). Se han documentado más de 80 formas mutadas de esta proteína. Otras proteínas plasmáticas también pueden acumularse en otros tipos raros de amiloidosis familiar. En los pacientes que reciben diálisis crónica a largo plazo, puede acumularse la proteína plasmática **β_2-microglobulina**, porque las membranas de diálisis la retienen en el plasma. Se cree que la acumulación de una proteína tipo amiloide es un factor crucial en la causa de la enfermedad de Alzheimer (caso 2, cap. 57). En total, al menos 20 proteínas diferentes han quedado implicadas en los distintos tipos de amiloidosis. Todavía no se han dilucidado los factores precisos que determinan el depósito de fragmentos proteolíticos en los tejidos. Las fibrillas de amiloide por lo general tienen vinculado un **componente P**, que se deriva del **componente P de amiloide sérico**, una proteína plasmática estrechamente relacionada con la proteína C reactiva. Los cortes de tejido que contienen fibrillas de amiloide interactúan con **colorante rojo Congo** y muestran notoria birrefringencia de color verde cuando se observan mediante microscopia polarizante. El depósito de amiloide sucede en sujetos que tienen diversos trastornos; si es posible, debe proporcionarse **tratamiento del trastorno subyacente**.

En general, los métodos experimentales para el tratamiento de la amiloidosis pueden considerarse bajo tres encabezados: 1) los que previenen la producción de la proteína precursora; 2) los que estabilizan las estructuras de proteínas precursoras de modo que no se conviertan en estructuras en hoja plegada β, y 3) los que desestabilizan fibrillas de amiloide de manera que vuelven a adoptar su conformación normal. Por ejemplo, al considerar el tercer método, varios **ligandos pequeños** se unen con avidez a fibrillas de amiloide. Por ejemplo, la **antraciclina yodada** se une de modo específico y con afinidad alta a todas las fibrillas de amiloide naturales, y promueve su desagregación *in vitro.* Otro método similar ha sido la creación del medicamento **eprodisato**. Las fibrillas de amiloide se unen a glucosaminoglucanos (cap. 48) en los tejidos. El eprodisato se une a los GAG y, de esta manera, altera la unión de las fibrillas a estas moléculas. Se espera que moléculas que afectan a cualquiera de los tres pro-

CUADRO 50–8 Una clasificación de la amiloidosis

Tipo	Proteína implicada
Primaria	Principalmente cadenas ligeras de inmunoglobulinas
Secundaria	Amiloide sérico A (SAA)
Familiar	Transtiretina; también rara vez apolipoproteína A-1, cistatina C, fibrinógeno, gelsolina, lisozima
Enfermedad de Alzheimer	Péptido amiloide β (cap. 57, caso núm. 2)
Vinculada con diálisis	β_2-microglobulina

Nota: Proteínas que no aparecen en esta lista también han quedado implicadas en la amiloidosis.

cesos que acaban de mencionarse resulten útiles en el tratamiento de la amiloidosis.

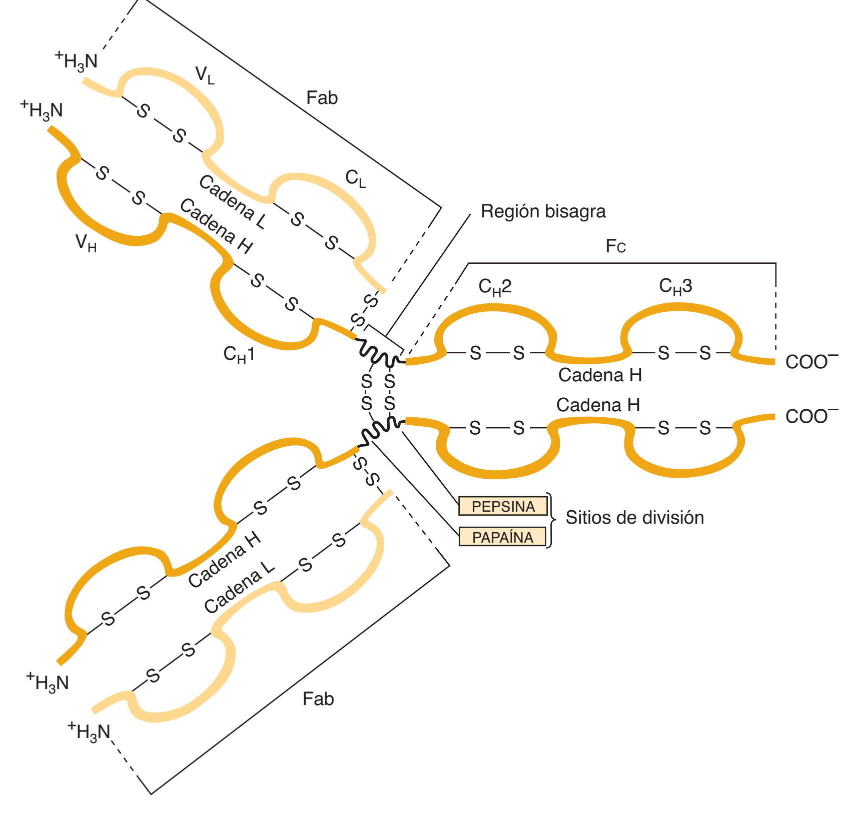
LAS INMUNOGLOBULINAS PLASMÁTICAS DESEMPEÑAN UNA FUNCIÓN IMPORTANTE EN LOS MECANISMOS DE DEFENSA DEL ORGANISMO

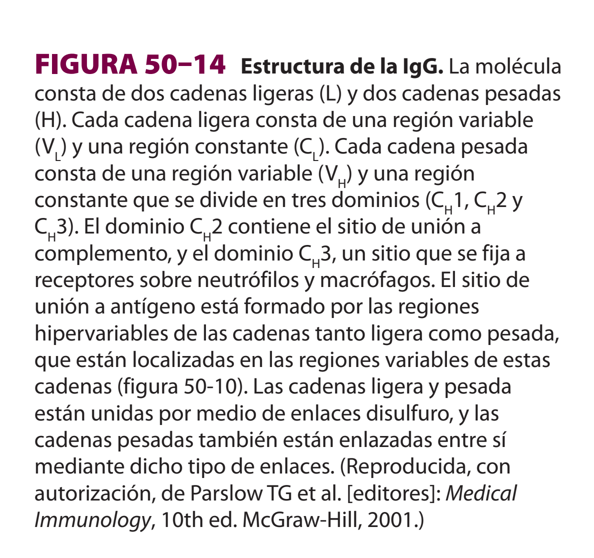
El sistema inmunitario del cuerpo consta de tres componentes principales: **linfocitos B**, **linfocitos T** y el **sistema inmunitario innato**. Los linfocitos B se derivan principalmente de las células de la médula ósea en animales superiores, y de la bolsa de Fabricio en aves. Los linfocitos T son de origen tímico. Las **células B** se encargan de la síntesis de anticuerpos humorales circulantes, también conocidos como **inmunoglobulinas**. Las **células T** participan en diversos **procesos inmunitarios mediados por células**, como rechazo de injerto, reacciones de hipersensibilidad, y defensa contra células malignas y muchos virus. El **sistema inmunitario innato** defiende contra infección de un modo inespecífico y, al contrario de las células B y T, es **no adaptativo**. Contiene diversas células, como fagocitos, neutrófilos, células asesinas naturales, y otras. En el caso número 1 en el capítulo 57 se describe una enfermedad en la cual hay una deficiencia genética de células T debido a mutación en el gen que codifica para la adenosina desaminasa. Hay varias otras enfermedades en las cuales **diversos componentes del sistema inmunitario son deficientes debido a mutaciones**. Casi todas éstas se caracterizan por **infecciones recurrentes**, que deben tratarse de manera vigorosa por medio de, por ejemplo, la administración de inmunoglobulinas (si hay deficiencia de éstas) y antibióticos apropiados.

En esta sección sólo se consideran las inmunoglobulinas plasmáticas, que se sintetizan principalmente en las **células plasmáticas**. Éstas son células especializadas de la línea de células B que sintetizan y secretan inmunoglobulinas hacia el plasma en respuesta a exposición a diversos **antígenos**.

Todas las inmunoglobulinas contienen un mínimo de dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas

Las **inmunoglobulinas** contienen un mínimo de dos cadenas ligeras (L) idénticas (23 kDa) y dos cadenas pesadas (H) idénticas (53 a 75 kDa), que se mantienen unidas como tetrámero (L_2H_2) mediante enlaces disulfuro. La **figura 50-14** muestra la estructura de la IgG; tiene **forma de Y**; la unión de antígeno ocurre en ambos extremos de la Y. Cada cadena puede dividirse en el aspecto conceptual en dominios específicos, o regiones, que tienen importancia estructural y funcional. La mitad de la cadena ligera (L) hacia el carboxilo terminal se llama la **región constante** (**C_L**), mientras que la mitad amino terminal es la **región variable** de la cadena ligera (V_L). Alrededor de una cuarta parte de la cadena pesada (H) en los amino terminales se denomina su **región variable** (V_H), y las otras tres cuartas partes de la cadena pesada se designan las **regiones constantes** (**C_H1**, **C_H2**, **C_H3**) de esa cadena H. La porción de la molécula de inmunoglobulina que se une al antígeno específico se forma por medio de las porciones amino terminal (regiones variables) de las cadenas tanto H como L; es decir, los dominios V_H y V_L. Los dominios de




FIGURA 50–14 **Estructura de la IgG.** La molécula consta de dos cadenas ligeras (L) y dos cadenas pesadas (H). Cada cadena ligera consta de una región variable (V_L) y una región constante (C_L). Cada cadena pesada consta de una región variable (V_H) y una región constante que se divide en tres dominios (C_H1, C_H2 y C_H3). El dominio C_H2 contiene el sitio de unión a complemento, y el dominio C_H3, un sitio que se fija a receptores sobre neutrófilos y macrófagos. El sitio de unión a antígeno está formado por las regiones hipervariables de las cadenas tanto ligera como pesada, que están localizadas en las regiones variables de estas cadenas (figura 50-10). Las cadenas ligera y pesada están unidas por medio de enlaces disulfuro, y las cadenas pesadas también están enlazadas entre sí mediante dicho tipo de enlaces. (Reproducida, con autorización, de Parslow TG et al. [editores]: *Medical Immunology*, 10th ed. McGraw-Hill, 2001.)

CUADRO 50–9 Propiedades de las inmunoglobulinas del ser humano

Propiedad	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Porcentaje de inmunoglobulina total en el suero (aproximado)	75	15	9	0.2	0.004
Concentración sérica (mg/dl) (aproximada)	1 000	200	120	3	0.05
Coeficiente de sedimentación	7S	7S u 11S[1]	19S	7S	8S
Peso molecular (× 1 000)	150	170 o 400[1]	900	180	190
Estructura	Monómero	Monómero o dímero	Monómero o pentámero	Monómero	Monómero
Símbolo de cadena H	γ	α	μ	δ	ε
Fijación de complemento	+	—	+	—	—
Paso transplacentario	+	—	—	?	—
Mediación de respuestas alérgicas	—	—	—	—	+
Se encuentra en secreciones	—	+	—	—	—
Opsonización	+		—[2]	—	—
Receptor de antígeno sobre célula B	—	—	+	?	—
La forma polimérica contiene cadena J	—	+	+	—	—

Fuente: Reproducido, con autorización, de Levinson W, Jawetz E: *Medical Microbiology and Immunology*, 7th ed. McGraw-Hill, 2002.
[1] La forma 11S se encuentra en secreciones (p. ej., saliva, leche, lágrimas) y líquidos de las vías respiratorias, el tubo digestivo y las vías genitales.
[2] IgM opsoniza de manera indirecta al activar el complemento. Esto produce C3b, que es una opsonina.

las cadenas de proteína constan de dos hojas de tramos de aminoácidos antiparalelos separados, que se unen a antígeno.

La digestión de una inmunoglobulina mediante la enzima **papaína** origina dos fragmentos de unión a antígeno (**Fab**) y un fragmento cristalizable (**Fc**), que se encarga de funciones de inmunoglobulinas que no son la unión directa de antígenos (figura 50-14). Puesto que hay dos regiones Fab, las moléculas de IgG se unen a dos moléculas de antígeno, y se llaman **divalentes**. El sitio del antígeno al cual se une un anticuerpo se denomina **determinante antigénico**, o **epítopo**. El área en la cual la papaína divide la molécula de inmunoglobulina —esto es, la región entre los dominios C_H1 y C_H2— se designa "**región bisagra**". Esta región confiere **flexibilidad** y permite que ambos extremos Fab se muevan de un modo independiente, lo que los ayuda a unirse a sitios antigénicos que pueden estar separados distancias variables (p. ej., sobre superficies bacterianas). Las regiones Fc y bisagra difieren en las distintas clases de anticuerpos, pero el modelo general de la estructura de anticuerpo para cada clase es similar al que se muestra en la figura 50-14 para la IgG.

Todas las cadenas ligeras son de tipo kappa o lambda

Hay dos tipos generales de cadenas ligeras, **kappa (κ)** y **lambda (λ)**, que pueden distinguirse con base en diferencias estructurales en sus regiones C_L. Una molécula de inmunoglobulina dada siempre contiene dos cadenas ligeras κ o λ, nunca una mezcla de κ y λ. En seres humanos, las cadenas κ son más frecuentes que las λ en moléculas de inmunoglobulina.

Los cinco tipos de cadena pesada determinan la clase de inmunoglobulina

Se han hallado **cinco clases** de cadena H en seres humanos (**cuadro 50-9**), que se distinguen por diferencias en sus **regiones C_H**. Se llaman λ, α, μ, δ y ε. Cada una de las cadenas μ y ε tienen cuatro dominios C_H en lugar de los tres habituales. El tipo de cadena H determina la clase de inmunoglobulina y, así, su función efectora. De esta manera, hay cinco clases de inmunoglobulinas: **IgG**, **IgA**, **IgM**, **IgD** e **IgE**. En el **cuadro 50-10** se resumen las funciones biológicas de estas cinco clases.

No hay dos regiones variables que sean idénticas

Las **regiones variables** de las moléculas de inmunoglobulina constan de los dominios V_L y V_H, y son bastante heterogéneas. De hecho, no se han encontrado dos regiones variables de diferentes seres humanos que tengan secuencias de aminoácidos idénticas. Sin embargo, análisis de aminoácidos han mostrado que las regiones variables constan de **regiones relativamente invariables** y otras **regiones hipervariables** (**figura 50-15**). Las cadenas L tienen tres regiones hipervariables (en V_L), y las cadenas H tienen cuatro (en V_H). Estas **regiones hipervariables** comprenden el **sitio de unión a antígeno** (localizado en los extremos de la Y que se muestra en la figura 50-14) y dictan la asombrosa especificidad de los anticuerpos. Por este motivo, las regiones hipervariables también se denominan **regiones determinantes de la complementariedad** (**CDR**). Alrededor de 5 a 10 aminoácidos en cada región hipervariable (CDR) contribuyen al sitio de unión a antígeno. Las CDR están localizadas en

CUADRO 50-10 Principales funciones de las inmunoglobulinas

Inmunoglobulina	Principales funciones
IgG	Principal anticuerpo en la respuesta secundaria. Opsoniza bacterias, lo que hace que sean más fáciles de fagocitar. Fija complemento, que incrementa la muerte de bacterias. Neutraliza toxinas bacterianas y virus. Cruza la placenta.
IgA	La IgA secretora impide la fijación de bacterias y virus a mucosas. No fija complemento.
IgM	Se produce en la respuesta primaria a un antígeno. Fija complemento. No cruza la placenta. Receptor de antígeno sobre la superficie de células B.
IgD	Se encuentra en la superficie de células B, donde actúa como un receptor para antígeno.
IgE	Media hipersensibilidad inmediata al suscitar liberación de mediadores desde las células cebadas y los basófilos en el momento de exposición a antígeno (alergeno). Defiende contra infecciones por gusanos al causar liberación de enzimas a partir de los eosinófilos. No fija el complemento. Principal defensa del huésped contra infecciones por helmintos.

Fuente: Reproducido, con autorización, de Levinson W, Jawetz E: *Medical Microbiology and Immunology,* 7th ed. McGraw-Hill, 2002.

asas pequeñas de los dominios variables; las regiones polipeptídicas circundantes entre las regiones hipervariables se designan **regiones armazón**. Las CDR de los dominios tanto V_H como V_L, unidas por medio de plegado de las cadenas polipeptídicas en las cuales están contenidas, forman una superficie hipervariable única que incluye el **sitio de unión a antígeno**. Diversas combinaciones de CDR de cadena H y L pueden dar lugar a muchos anticuerpos de especificidades diferentes, característica que contribuye a la tremenda diversidad de las moléculas de anticuerpo, y se llama **diversidad combinacional**. Los antígenos grandes interactúan con todas las CDR de un anticuerpo, mientras que los ligandos pequeños quizá interactúan con sólo una o algunas CDR que forman una bolsa o surco en la molécula de anticuerpo. La esencia de las interacciones antígeno-anticuerpo es la **complementariedad mutua** entre las superficies de CDR y epítopos. Las interacciones entre anticuerpos y antígenos comprenden **fuerzas y enlaces no covalentes** (fuerzas electrostáticas y de van der Waals, y enlaces de hidrógeno e hidrofóbicos).

Las regiones constantes determinan las funciones efectoras específicas para clase

Las **regiones constantes** de las moléculas de inmunoglobulina, en especial las C_H2 y C_H3 (y C_H4 de IgM e IgE), que constituyen el fragmento Fc, se encargan de las **funciones efectoras específicas para clase** de las diferentes moléculas de inmunoglobulina (cuadro 50-9, parte inferior), por ejemplo, la fijación de complemento o paso transplacentario. Algunas inmunoglobulinas como la IgG inmune únicamente existen en la estructura tetramérica básica, mientras que otras, como la IgA y la IgM, pueden existir en polímeros de orden superior de dos, tres (IgA), o cinco (IgM) unidades tetraméricas (**figura 50-16**).

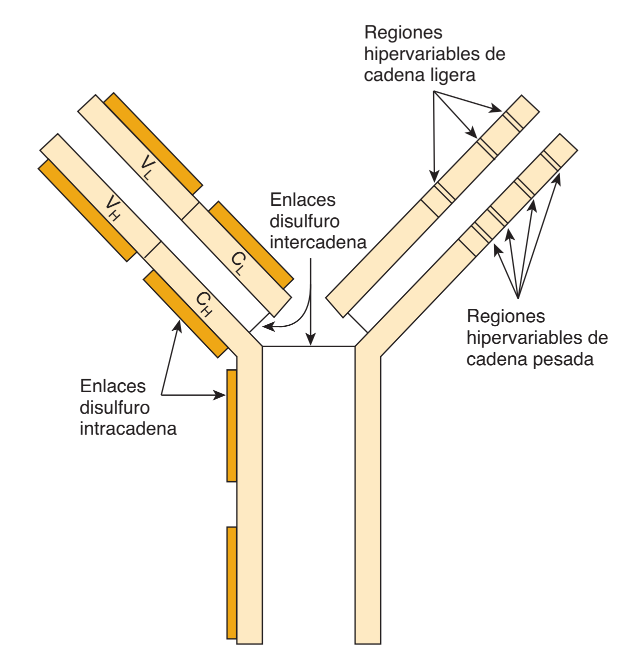


FIGURA 50–15 Modelo esquemático de una molécula de IgG que muestra las posiciones aproximadas de las regiones hipervariables en las cadenas pesada y ligera. El sitio de unión a antígeno está formado por estas regiones hipervariables. Las regiones hipervariables también se llaman regiones determinantes de la complementariedad (CDR). (Modificada y reproducida, con autorización, de Parslow TG et al. [editores]: *Medical Immunology*, 10th ed. McGraw-Hill, 2001.)

Las cadenas L y H se sintetizan como moléculas separadas, y después se montan dentro de la célula B o la célula plasmática hacia moléculas de inmunoglobulina maduras, todas las cuales son **glucoproteínas**.

Las cadenas tanto ligera como pesada son productos de múltiples genes

Cada **cadena ligera** de inmunoglobulina es el producto de por lo menos tres genes estructurales separados: un gen que codifica para la **región variable** (**V_L**), uno que codifica para la **región de unión** (***J***) (que no tiene vínculo con la cadena J de la IgA o la IgM), y uno que codifica para la **región constante** (**C_L**). Cada **cadena pesada** es el producto de al menos **cuatro** genes diferentes: un gen que codifica para la **región variable** (**V_H**), uno que codifica para la **región de diversidad** (***D***), uno que codifica para la **región de unión** (***J***), y uno que codifica para la **región constante** (**C_H**). De este modo, el concepto de "un gen, una proteína" no es válido. En los capítulos 35 y 38 se comentan los mecanismos moleculares de los cuales depende la generación de las cadenas de inmunoglobulina únicas a partir de múltiples genes estructurales.

La diversidad de anticuerpos depende de reordenamientos de gen

Cada persona tiene la capacidad de generar anticuerpos dirigidos contra tal vez un millón de diferentes antígenos. La generación de esa inmensa **diversidad de anticuerpos** depende de diversos factores, entre ellos la existencia de múltiples segmen-

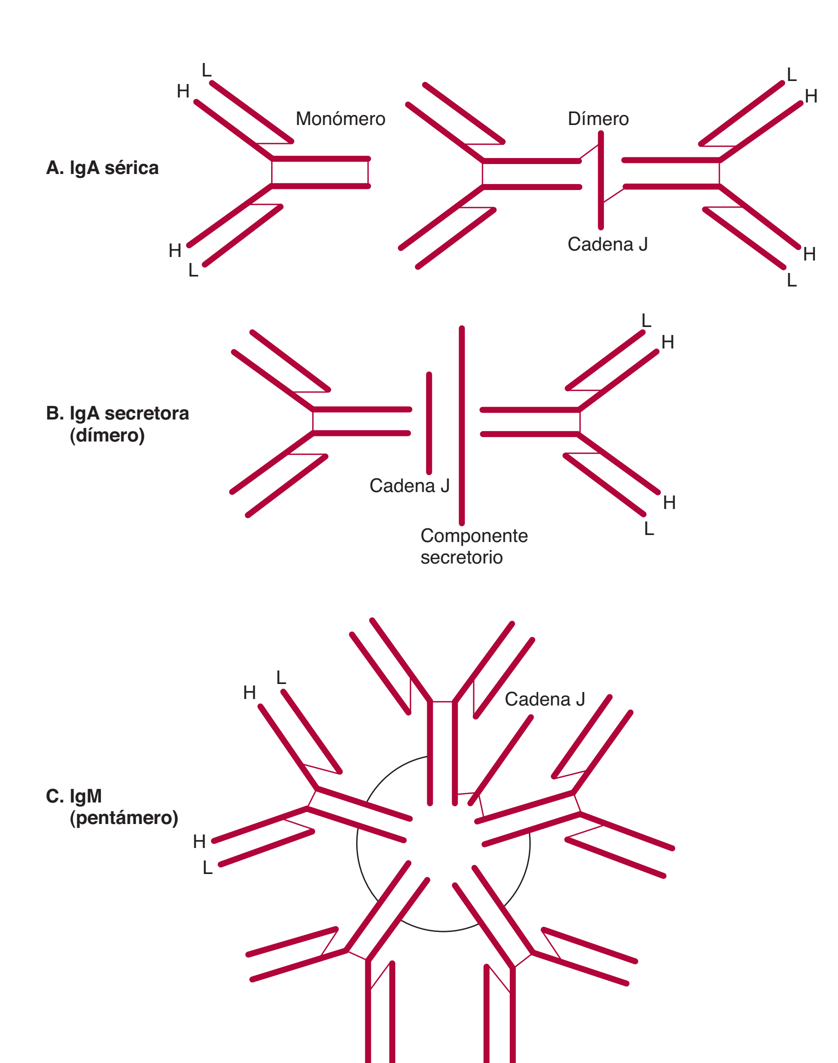


FIGURA 50–16 Representación esquemática de la IgA sérica, IgA secretora e IgM. Tanto la IgA como la IgM muestran una cadena J, pero sólo la IgA secretora tiene un componente secretor. Las líneas gruesas representan cadenas polipeptídicas; las líneas delgadas representan enlaces disulfuro que unen diferentes cadenas polipeptídicas. (Reproducida, con autorización, de Parslow TG et al. [editores]: *Medical Immunology*, 10th ed. McGraw-Hill, 2001.)

tos de gen (segmentos V, C, J y D), sus recombinaciones (caps. 35 y 38), las combinaciones de diferentes cadenas L y H, una frecuencia alta de mutaciones somáticas en genes que codifican para inmunoglobulina, y **diversidad de unión**. Esta última refleja la adición o deleción de un número al azar de nucleótidos cuando ciertos segmentos de gen se unen entre sí, e introduce un grado adicional de diversidad. Así, los factores anteriores aseguran que puede sintetizarse **un vasto número de anticuerpos** a partir de varios cientos de segmentos de gen.

El cambio de clase (isotipo) sucede durante respuestas inmunitarias

En casi todas las respuestas inmunitarias humorales, se generan anticuerpos con especificidad idéntica pero de diferentes clases en un orden cronológico específico en respuesta al inmunógeno (antígeno inmunizante). Por ejemplo, los anticuerpos de la clase IgM normalmente preceden a las moléculas de la clase IgG. El cambio desde una clase hacia otra se denomina **"cambio de clase o isotipo"**, y su base molecular se ha investigado extensamente. Un tipo único de cadena ligera de inmunoglobulina puede combinarse con una cadena μ específica para antígeno para generar una molécula de IgM específica. Después, la misma cadena ligera específica para antígeno se combina con una cadena γ que tiene una región V_H idéntica para generar una molécula de IgG con especificidad para antígeno idéntica a la de la molécula de IgM original. La misma cadena ligera también puede combinarse con una cadena pesada α, que de nuevo contiene la región V_H idéntica, para formar una molécula de IgA con especificidad de antígeno idéntica. Estas tres clases (IgM, IgG e IgA) de moléculas de inmunoglobulina contra el mismo antígeno tienen **dominios variables idénticos** en sus cadenas ligeras (V_L) y pesadas (V_H), y se dice que comparten un **idiotipo**. (Los idiotipos son los determinantes antigénicos formados por los aminoácidos específicos en las regiones hipervariables.) Así, las **diferentes clases** de estas tres inmunoglobulinas (designadas **isotipos**) están determinadas por sus regiones **C_H diferentes**, que se combinan con las mismas regiones V_H específicas para antígeno.

La producción tanto excesiva como insuficiente de inmunoglobulinas puede causar estados morbosos

Los trastornos de las inmunoglobulinas incluyen **incremento de la producción** de clases específicas de inmunoglobulinas o incluso moléculas de inmunoglobulina específicas, estas últimas por tumores clonales de células plasmáticas llamados mielomas. El **mieloma múltiple** es una enfermedad neoplásica; la electroforesis del suero o la orina por lo general revelará gran aumento de una inmunoglobulina particular o una cadena ligera

particular (esta última denominada proteína de Bence-Jones). La **producción disminuida** puede restringirse a una clase única de moléculas de inmunoglobulina (p. ej., IgA o IgG), o comprender producción insuficiente de todas las clases de inmunoglobulinas (IgA, IgD, IgE, IgG e IgM). Una reducción grave de la síntesis de una clase de inmunoglobulina debido a una anormalidad genética puede suscitar una seria enfermedad de inmunodeficiencia —p. ej., **agammaglobulinemia**, en la cual la producción de IgG está notoriamente afectada— debido a deterioro de la defensa del organismo contra microorganismos.

Los hibridomas proporcionan fuentes a largo plazo de anticuerpos monoclonales muy útiles

Cuando se inyecta un antígeno en un animal, los anticuerpos resultantes son **policlonales**, que son sintetizados por una mezcla de células B. Los anticuerpos policlonales se dirigen contra varios sitios diferentes (epítopos o determinantes) en el antígeno y, de este modo, son **no monoespecíficos**. Empero, mediante un método creado por Kohler y Milstein, pueden obtenerse cantidades casi ilimitadas de un anticuerpo monoclonal único específico para un epítopo.

El método incluye **fusión celular**, y la línea celular permanente resultante se designa **hibridoma**. Típicamente, se obtienen células B del bazo de un ratón (u otro animal idóneo) en el cual previamente se inyectó un antígeno o una mezcla de antígenos (p. ej., células extrañas). Las células B se mezclan con **células de mieloma** de ratón y se exponen a polietilenglicol, que produce fusión celular. En la **figura 50-17** se resumen los principios involucrados en la generación de células de hibridoma. Bajo las condiciones empleadas, sólo las células de hibridoma se multiplican en cultivo de células. Esto comprende colocar las células híbridas en placas en un medio que contiene hipoxantina-aminopterina-timidina (HAT) a una concentración tal que cada plato contiene aproximadamente una célula. Así, una **clona** de células de hibridoma se multiplica en cada plato. El medio de cultivo se recolecta y se investiga para anticuerpos que reaccionan con el antígeno o los antígenos originales. Si el inmunógeno es una mezcla de muchos antígenos (p. ej., una preparación de membrana celular), un plato de cultivo individual contendrá una clona de células de hibridoma que sintetizan un anticuerpo monoclonal contra un determinante antigénico específico de la mezcla. Al recolectar los medios de muchos platos de cultivo, puede obtenerse una batería de anticuerpos monoclonales, muchos de los cuales son específicos para componentes individuales de la mezcla inmunogénica. Las células de hibridoma se pueden congelar y almacenar, para después deshelar cuando se necesita más del anticuerpo; esto asegura su abasto a largo plazo. Las células de hibridoma también se pueden cultivar en el abdomen de ratones, lo que proporciona aportes relativamente grandes de anticuerpos. Se está intentando producir anticuerpos monoclonales **humanos**.

Debido a su **especificidad**, los anticuerpos monoclonales se han convertido en **reactivos útiles** en extremo en muchas áreas de la biología y la medicina. Por ejemplo, pueden usarse para medir las cantidades de muchas proteínas individuales (p. ej., proteínas plasmáticas) para determinar la naturaleza de agentes infecciosos (p. ej., tipos de bacterias), y para subclasificar células tanto normales (p. ej., linfocitos) como tumorales (p. ej., células leucémicas). Además, se están empleando para dirigir agentes terapéuticos hacia las células tumorales y para acelerar la eliminación de fármacos de la circulación cuando alcanzan cifras tóxicas (p. ej., digoxina).

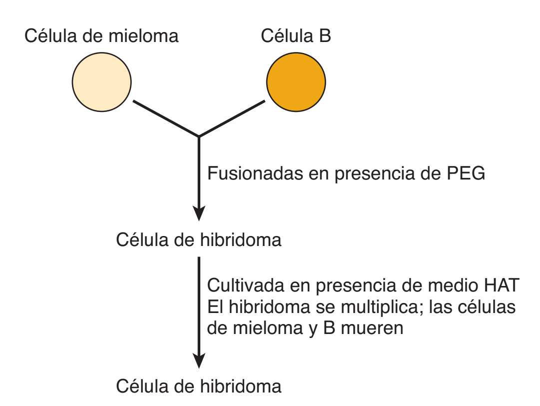


FIGURA 50–17 Esquema de la producción de una célula de hibridoma. Las células de mieloma están inmortalizadas, no producen anticuerpos, y son HGPRT⁻ (lo que hace inactiva la vía de salvamento de síntesis de purina [cap. 33]). Las células B no están inmortalizadas, cada una produce un anticuerpo específico, y son HGPRT⁺. El polietilén glicol (PEG) estimula la fusión celular. Las células de hibridoma resultantes están inmortalizadas (mediante las células de mieloma originales), producen anticuerpos, y son HGPRT⁺ (estas dos últimas propiedades se adquieren a partir de las células B originales). Las células B morirán en el medio porque no están inmortalizadas. En presencia de HAT, las células de mieloma también morirán, dado que la aminopterina en la HAT suprime la síntesis de purina por medio de la vía *de novo* al inhibir la reutilización de tetrahidrofolato (cap. 33). Con todo, las células de hibridoma sobrevivirán, crecerán (porque son HGPRT⁺) y —si se clonan— producirán anticuerpo monoclonal. (HAT, hipoxantina, aminopterina y timidina; HGPRT, hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa.)

Para **uso terapéutico en seres humanos**, anticuerpos monoclonales hechos en ratones se pueden **humanizar**. Esto puede lograrse al fijar las regiones determinantes de complementariedad (CDR) (los sitios que se unen a antígenos) en sitios apropiados en una molécula de inmunoglobulina del ser humano. Esto produce un anticuerpo que es muy similar a un anticuerpo del ser humano, lo que **disminuye la inmunogenicidad**, y las probabilidades de una reacción anafiláctica, de manera notoria.

El sistema de complemento incluye alrededor de 20 proteínas plasmáticas, y participa en la lisis celular, la inflamación y otros procesos

El plasma contiene aproximadamente 20 proteínas que son miembros del **sistema de complemento**. Este sistema se descubrió cuando se observó que la adición de suero fresco que contenía anticuerpos dirigidos contra una bacteria causaba su **lisis**. A diferencia de los anticuerpos, el factor fue **lábil** cuando se calentó a 56°C. La investigación subsiguiente ha definido las proteínas del sistema y cómo funcionan; casi todas se han clonado y secuenciado. El sistema de complemento está involucrado en la capacidad para **lisar** diversas células, pero también en aspectos de la **inflamación** (p. ej., quimiotaxis y fagocitosis), y en

la **eliminación de complejos de antígeno-anticuerpo** de la circulación. Las deficiencias de diversos componentes del sistema debidas a mutaciones dan por resultado **trastornos de deficiencia del complemento**. Los detalles de este sistema son relativamente complejos, y debe consultarse un libro de inmunología. El concepto básico es que las **proteínas normalmente inactivas** del sistema, cuando quedan expuestas a diversos estímulos, se **activan por proteólisis** e interactúan en una secuencia específica con una o más de las otras proteínas del sistema. **El resultado global de la activación de la vía es la lisis celular** y la generación de **fragmentos de péptido o de polipéptido** que participan en aspectos de la inflamación. El sistema de complemento semeja la coagulación de la sangre (cap. 51) por cuanto comprende tanto **conversión de precursores inactivos en productos activos por medio de proteasas**, como una **cascada con amplificación**.

RESUMEN

- El plasma contiene muchas proteínas con diversas funciones. Casi todas se sintetizan en el hígado y están glucosiladas.
- La albúmina, que no está glucosilada, es la principal proteína, y es el principal determinante de la presión osmótica intravascular; también se une a muchos ligandos, como medicamentos y bilirrubina.
- La haptoglobina se une a la hemoglobina extracorpuscular, impide su pérdida hacia los riñones y la orina, y, por tanto, preserva su hierro para reutilización.
- La transferrina se une al hierro, y lo transporta hacia sitios donde se requiere. La ferritina proporciona una reserva intracelular de hierro. La regulación de la concentración corporal de hierro comprende una batería de proteínas, algunas de las cuales —como la ferroportina y la hepcidina— sólo se han descubierto en fecha relativamente reciente. La anemia por deficiencia de hierro es un trastorno muy prevaleciente. La hemocromatosis hereditaria es una enfermedad genética que comprende absorción excesiva de hierro; se comenta en el capítulo 57 (caso 10). Se dispone de varios análisis de laboratorio para evaluar el estado en cuanto a hierro (p. ej., exceso o deficiencia) en el cuerpo del ser humano, y muchas proteínas diferentes están involucradas en diferentes aspectos de su metabolismo.
- La ceruloplasmina contiene cantidades considerables de cobre, pero la albúmina parece ser más importante respecto a su transporte. Se ha hallado que las enfermedades tanto de Wilson como de Menkes, que reflejan anormalidades del metabolismo del cobre, se deben a mutaciones en genes que codifican para ATPasas tipo P de unión a cobre.
- La α_1-antitripsina es el principal inhibidor de serina proteasa del plasma; inhibe en particular la elastasa de los neutrófilos. La deficiencia genética de esta proteína es una causa de enfisema, y puede llevar también a enfermedad del hígado.
- La α_2-macroglobulina es una importante proteína plasmática que neutraliza muchas proteasas y dirige ciertas citocinas hacia órganos específicos.
- Las inmunoglobulinas desempeñan una función en los mecanismos de defensa del organismo, al igual que las proteínas del sistema de complemento. Se describen algunas de las principales características de estas proteínas.

REFERENCIAS

Andrew NC: Forging a field: the golden age of iron biology. Blood 2008;112:219.

Burtis CA, Ashwood EA, Bruns DE (editors): *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics,* 4th ed. Elsevier Saunders, 2006. (Los capítulos 20, 26 y 31 ofrecen una amplia cobertura sobre proteínas plasmáticas, proteínas de complemento, inmunoglobulinas, proteína creativa, hemoglobina, hierro y bilirrubina.)

Craig WY, Ledue TB, Ritchie RF: *Plasma Proteins: Clinical Utility and Interpretation.* Foundation for Blood Research, 2008.

Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, et al: *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 17th ed. McGraw-Hill, 2008 (Los capítulos 58, 98 y 308 abordan la anemia y policitemia, deficiencia de hierro y otras anemias hipoproliferativas, así como una introducción al sistema inmunitario.)

Ganz T: Iron homeostasis: fitting the puzzle pieces together. Cell Metab 2008;7:288.

Hentz MW, Muckenthaler MU, Gali B, et al: Two to tango: regulation of mammalian iron metabolism. Cell 2010;142:24.

Lab Tests Online: http://www.labtestsonline.org/ (Un sitio web muy completo provisto por la American Association of Clinical Chemists que provee información sobre la medición y relevancia de varias de las proteínas plasmáticas consideradas en este capítulo, además de otras pruebas de laboratorio relacionadas.

Levinson W: *Review of Medical Microbiology and Immunology,* 11th ed. Appleton & Lange, 2010. (Good description of the basics of Immunology).

Murphy KM, Travers P, Walport M: *Janeway's Immunobiology,* 7th ed. Garland Science Publishing, 2007.

Schaller H, Gerber S, Kaempfer U, et al: *Human Blood Plasma Proteins: Structure and Function.* Wiley, 2008.

CAPÍTULO

51

Hemostasia y trombosis

Peter L. Gross, MD, MSc, FRCP(C), Robert K. Murray, MD, PhD y Margaret L. Rand, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Entender la importancia de la hemostasia y la trombosis en la salud y enfermedad.
- Esbozar las vías de la coagulación que dan lugar a la formación de fibrina.
- Identificar los factores de la coagulación dependientes de la vitamina K.
- Proporcionar ejemplos de trastornos genéticos que llevan a sangrado.
- Describir el proceso de la fibrinólisis.
- Esbozar los pasos que llevan a la agregación plaquetaria.
- Identificar los fármacos antiplaquetarios y su modo de inhibición de la agregación plaquetaria.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

En este capítulo se describen los aspectos básicos de las proteínas del sistema de coagulación de la sangre y de la fibrinólisis. También se presentan algunos aspectos fundamentales de las características biológicas de las plaquetas. Los estados hemorrágicos y trombóticos pueden causar serias urgencias médicas, y las trombosis en las arterias coronarias y cerebrales son causas importantes de muerte en muchas partes del mundo. El manejo racional de estas enfermedades requiere un entendimiento claro de las bases de la coagulación de la sangre, la fibrinólisis y la agregación plaquetaria.

LA HEMOSTASIA Y LA TROMBOSIS TIENEN TRES FASES EN COMÚN

La **hemostasia** es el cese de la hemorragia por un vaso cortado o roto, mientras que la **trombosis** ocurre cuando el endotelio que reviste a los vasos sanguíneos se daña o elimina (p. ej., en el momento de la rotura de una placa aterosclerótica). Estos procesos comprenden vasos sanguíneos, agregación plaquetaria y proteínas plasmáticas que causan la formación o disolución de agregados plaquetarios y fibrina.

En la hemostasia hay vasoconstricción inicial del vaso lesionado, lo que causa flujo sanguíneo disminuido en posición distal a la lesión. Entonces la hemostasia y la trombosis comparten **tres fases**:

1. Formación de un **agregado plaquetario** laxo y temporal en el sitio de la lesión. Las plaquetas se unen al colágeno en el sitio de la lesión de la pared del vaso, y forman tromboxano A_2, y liberan ADP, que activa otras plaquetas que fluyen en la vecindad de la lesión. (El mecanismo de activación plaquetaria se describe más adelante.) La trombina, que se forma durante la coagulación en el mismo sitio, causa más activación plaquetaria. En el momento de la activación, las plaquetas cambian de forma y, en presencia de fibrinógeno, y/o del factor de von Willebrand, se agregan para formar el tapón hemostático (en la hemostasia) o un trombo (en la trombosis).
2. Formación de una **red de fibrina** que se une al agregado plaquetario, y forma un tapón hemostático más estable o trombo.
3. **Disolución** parcial o completa del tapón hemostático o trombo por la plasmina.

Hay tres tipos de trombos

Se distinguen tres tipos de trombos o coágulos. Los tres contienen **fibrina** en diversas proporciones.

1. El **trombo blanco** está compuesto de plaquetas y fibrina, y tiene contenido relativamente bajo de eritrocitos. Se forma en el sitio de una lesión o pared de vaso anormal, particularmente en áreas donde el flujo sanguíneo es rápido (arterias).
2. El **trombo rojo** consta principalmente de eritrocitos y fibrina. Semeja desde el punto de vista morfológico el coágulo formado en un tubo de ensayo, y puede formarse *in vivo* en áreas de flujo sanguíneo retardado o estasis (p. ej., venas) con lesión vascular o sin ella, o en un sitio de lesión o en un vaso anormal conjuntamente con un tapón plaquetario iniciador.
3. Un tercer tipo es un **depósito de fibrina** diseminado en vasos sanguíneos de calibre muy pequeño o capilares.

Primero se describirá la vía de la coagulación que lleva a la formación de fibrina. Después se describirán brevemente algunos aspectos de la participación de las plaquetas y de las paredes de los vasos sanguíneos durante el proceso general. Esta separación de factores de la coagulación y plaquetas es artificial, puesto que ambos desempeñan funciones íntimas y a menudo interdependientes en la hemostasia y la trombosis, pero facilita la descripción de los procesos generales involucrados.

Las vías tanto extrínseca como intrínseca dan por resultado la formación de fibrina

Dos vías llevan a la formación de **coágulo de fibrina**: las vías **extrínseca** e **intrínseca**. Estas vías no son independientes como se creía. Sin embargo, en el texto que sigue se retiene esta distinción artificial para facilitar su descripción.

El inicio de la formación del coágulo de fibrina en respuesta a **lesión de tejido** se lleva a cabo mediante la **vía extrínseca**. La **vía intrínseca** es activada por superficies con carga negativa ***in vitro***, por ejemplo, vidrio. Ambas vías llevan a la activación de **protrombina hacia trombina**, y la división, catalizada por trombina, del **fibrinógeno**, para formar el coágulo de **fibrina**. Las vías son complejas y comprenden muchas proteínas diferentes (**figuras 51-1** y **51-2**; **cuadro 51-1**). En general, estas proteínas pueden clasificarse en **cinco tipos** (**cuadro 51-2**): 1) zimógenos de proteasas dependientes de serina, que quedan activados durante el proceso de coagulación; 2) cofactores; 3) fibrinógeno; 4) una transglutaminasa, que estabiliza el coágulo de fibrina, y 5) proteínas reguladoras y de otros tipos.

La vía extrínseca lleva a activación del factor X

La **vía extrínseca** comprende el factor tisular, los factores VII y X, y Ca^{2+}, y da por resultado la producción de factor Xa (por convención, el sufijo "a" indica factores de la coagulación activados). Se inicia en el sitio de **lesión de tejido** con la exposición de **factor tisular** (figura 51-1), ubicado en el subendotelio y sobre monocitos activados. El factor hístico interactúa con, y activa, el **factor VII** (53 kDa, un zimógeno que contiene residuos γ-carboxiglutamato [Gla] dependientes de vitamina K; cap. 44), sintetizado en el hígado. Cabe hacer notar que en los zimógenos que contienen Gla (factores II, VII, IX y X), los residuos Gla en las regiones amino terminal de las moléculas sirven como sitios de unión de alta afinidad para el Ca^{2+}. El factor tisular actúa como un cofactor para el **factor VIIa**; aumenta su actividad enzimática para activar el **factor X** (56 kDa). La reacción mediante la cual el **factor X** es activado requiere el montaje de componentes, llamados **complejo de tenasa extrínseco**, sobre una superficie de membrana celular que expone el fosfolípido procoagulante fosfatidilserina; estos componentes son el Ca^{2+}, el factor tisular, el factor VIIa y el factor X. El factor VIIa divide un enlace Arg-Ile en el factor X para producir la serina proteasa de dos cadenas, el **factor Xa**. El factor hístico y el factor VIIa también activan el factor IX en la vía intrínseca. De hecho, **ahora se considera que la formación de complejos entre el factor hístico y el factor VIIa es el proceso clave involucrado en el inicio de la coagulación de la sangre *in vivo***.

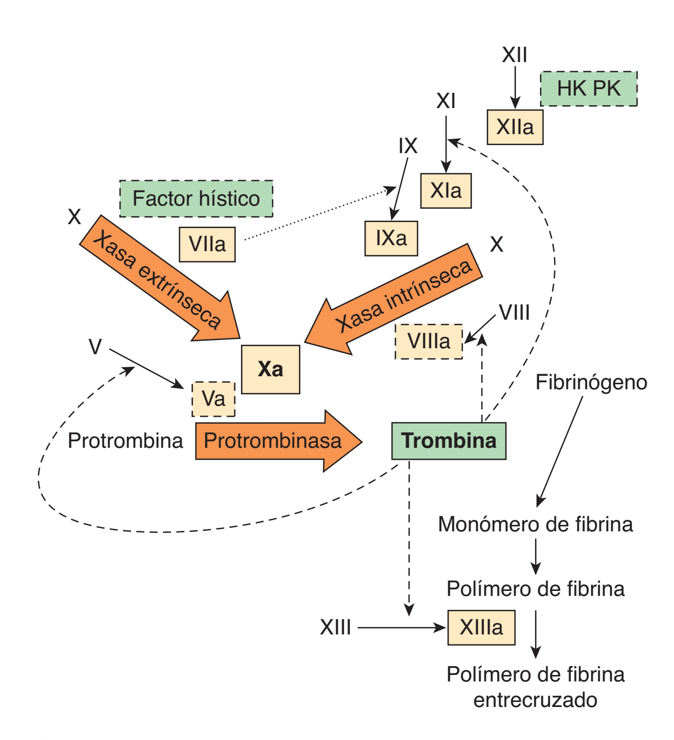


FIGURA 51–1 Las vías de la coagulación de la sangre; la vía extrínseca está indicada en la parte superior izquierda, y la intrínseca, en la superior derecha. Las vías convergen en la formación del factor Xa y culminan con la formación de fibrina con enlaces cruzados. Los complejos de factor hístico y factor VIIa activan no sólo al factor X (Xasa extrínseca [tenasa]), sino también al factor IX en la vía intrínseca (flecha punteada). Además, la retroacción por trombina activa en los sitios indicados (flechas discontinuas); y también activa el factor VII a VIIa (que no se muestra). Los tres complejos predominantes, la Xasa extrínseca, la Xasa intrínseca y la protrombinasa, están indicados en las flechas; las reacciones requieren procoagulante aniónico fosfolípido de membrana y calcio. Las proteasas activadas aparecen en cuadros con contorno continuo; los cofactores activos están en cuadros con contorno discontinuo, y los factores inactivos no están en cuadros. (PK, precalicreína; HK, cininógeno de alto peso molecular, HMW.)

El **inhibidor de la vía del factor hístico** (**TFPI**) es un importante inhibidor fisiológico de la coagulación. Es una proteína que circula en la sangre asociada con lipoproteínas. El TFPI inhibe de manera directa el factor Xa al unirse a la enzima cerca de su sitio activo; este complejo de factor Xa-TFPI a continuación inhibe el complejo del factor VIIa-factor hístico.

La vía del factor intrínseco también lleva a la activación del factor X

La activación del **factor Xa** es el principal sitio donde convergen las vías intrínseca y extrínseca (figura 51-1). La **vía intrínseca** (figura 51-1) comprende los factores XII, XI, IX, VIII y X, así como precalicreína, cininógeno de alto peso molecular (HMW), Ca^{2+} y fosfolípido. Da lugar a la producción de **factor Xa** que es dividido por el complejo de tenasa; el factor IXa actúa como la serina proteasa, y el factor VIIIa como el cofactor, de la vía intrínseca. La activación del **factor X** proporciona un importante **enlace** entre las vías intrínseca y extrínseca.

La **vía intrínseca** puede iniciarse con la "fase de contacto" en la cual la precalicreína, el cininógeno de HMW, el factor XII

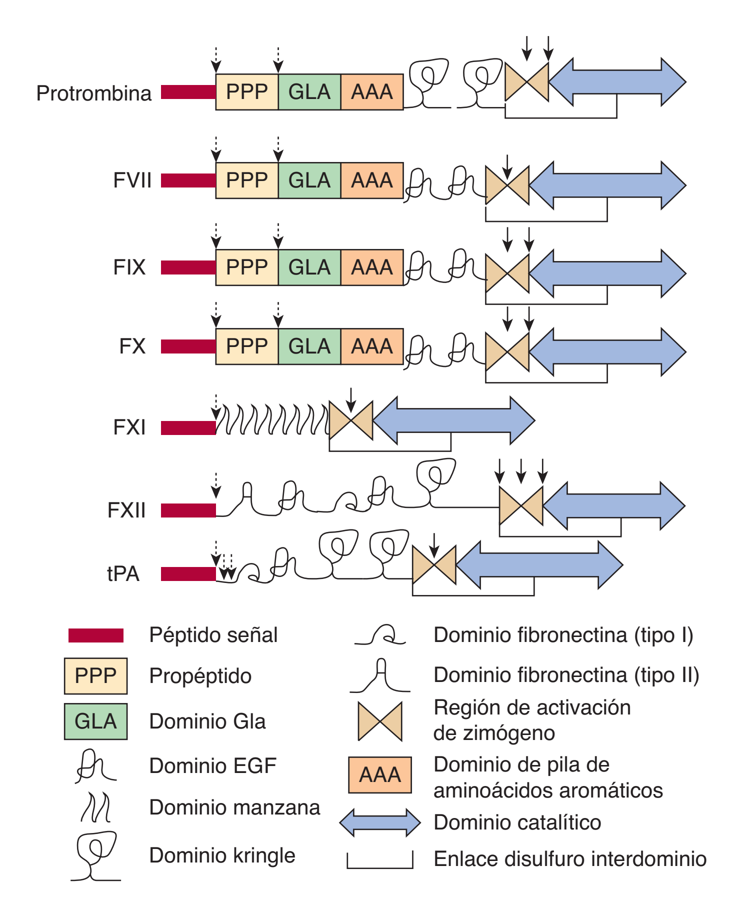


FIGURA 51–2 Los dominios estructurales de proteínas seleccionadas involucradas en la coagulación y la fibrinólisis. Los dominios son como se identifica en la parte inferior de la figura, e incluyen péptido señal, propéptido, dominio de Gla (γ-carboxiglutamato), dominio de factor de crecimiento epidérmico (EGF), dominio manzana, dominio kringle, dominio de fibronectina (tipos I y II), la región de activación de zimógeno, pila de aminoácido aromático, y el dominio catalítico. Los enlaces disulfuro interdominio están indicados, no así muchos enlaces disulfuro intradominio. Los sitios de división proteolítica en la síntesis o activación están indicados por flechas (discontinuas y continuas, respectivamente). FVII, factor VII; FIX, factor IX; FX, factor X; FXI, factor XI; FXII, factor XII; tPA, activador del plasminógeno hístico. (Adaptada, con autorización, de Furie B, Furie BC: The molecular basis of blood coagulation. Cell 1988;53:505.)

CUADRO 51–1 Sistema numérico para la nomenclatura de factores de la coagulación de la sangre

Factor	Nombre común	
I	Fibrinógeno	Estos factores por lo general se denominan por sus nombres comunes
II	Protrombina	
III	Factor hístico	
IV	Ca^{2+}	Por lo general no se hace referencia al Ca^{2+} como factor de la coagulación
V	Proacelerina, factor lábil, globulina aceleradora (Ac-)	
VII[1]	Proconvertina, acelerador de la conversión de protrombina sérica (SPCA), cotromboplastina	
VIII	Factor antihemofílico A, globulina antihemofílica (AHG)	
IX	Factor antihemofílico B, factor Christmas, componente de tromboplastina plasmática (PTC)	
X	Factor Stuart-Prower	
XI	Antecedente de tromboplastina plasmática (PTA)	
XII	Factor Hageman	
XIII	Factor estabilizante de la fibrina (FSF), fibrinoligasa	

Nota: Los números indican el orden en el cual se han descubierto los factores, y no se relacionan con el orden en el cual actúan.
[1] No hay factor VI.

y el factor XI están expuestos a una superficie activadora con carga negativa; puede usarse caolín para pruebas *in vitro* como un iniciador de la vía intrínseca. Cuando los componentes de la fase de contacto se montan sobre la superficie activadora, el factor XII se activa hacia **factor XIIa** en el momento de la proteólisis por calicreína. Este factor XIIa, generado por la calicreína, ataca la precalicreína para generar más calicreína, lo que establece una activación recíproca. El factor XIIa, una vez formado, activa al **factor XI** hacia **XIa** y libera también **bradicinina** (un nonapéptido con potente acción vasodilatadora) del cininógeno de HMW.

El factor XIa en presencia de Ca^{2+} activa al factor IX (55 kDa, un zimógeno que contiene Gla), hacia la serina proteasa, el **factor IXa**. Esto, a su vez, también divide un enlace Arg-Ile en el factor X para producir **factor Xa**. Esta última reacción requiere el montaje de componentes, llamados **complejo de tenasa intrínseco**, sobre una superficie de membrana: Ca^{2+} y el factor VIIIa, así como factores IXa y X.

El **factor VIII** (330 kDa), una glucoproteína circulante, no es un precursor de proteasa sino un cofactor que sirve como un receptor para los factores IXa y X sobre la superficie plaquetaria. El factor VIII es activado por cantidades diminutas de trombina para **formar factor VIIIa** que, a su vez, se inactiva en el momento de división adicional por trombina.

La función de los **pasos iniciales de la vía intrínseca** en el inicio de la coagulación se ha cuestionado, porque los pacientes que tienen una deficiencia hereditaria del factor XII, precalicreína o cininógeno de HMW no muestran problemas hemorrágicos. De modo similar, los pacientes con una deficiencia del factor XI pueden no tener problemas hemorrágicos. La vía intrínseca sirve en su mayor parte para **amplificar el factor Xa** y finalmente la **formación de trombina**, por medio de mecanismos de retroacción (véase más adelante). La vía intrínseca también puede tener importancia en la **fibrinólisis** (véase más adelante), puesto que la calicreína, el factor XIIa y el factor XIa pueden dividir el plasminógeno, y la calicreína puede activar la urocinasa de cadena única.

El factor Xa lleva a la activación de protrombina hacia trombina

El **factor Xa**, producido mediante la vía extrínseca o la intrínseca, activa a la **protrombina** (factor II) hacia **trombina** (factor IIa) (figura 51-1).

La activación de la protrombina, al igual que la del factor X, ocurre en una superficie de membrana y requiere el montaje de un **complejo de protrombinasa**, que consta de Ca^{2+}, factor Va,

CUADRO 51–2 Las funciones de las proteínas involucradas en la coagulación de la sangre

Zimógenos de serina proteasas	
Factor XII	Se une a superficie con carga negativa, p. ej., caolín, vidrio; es activado por cininógeno de alto peso molecular, y calicreína
Factor XI	Activado por el factor XIIa
Factor IX	Activado por el factor XIa y factor VIIa
Factor VII	Activado por el factor VIIa, factor Xa y trombina
Factor X	Activado sobre la superficie de plaquetas activadas por complejo de tenasa (Ca^{2+}, factores VIIIa y IXa) y por el factor VIIa en presencia de factor hístico y Ca^{2+}
Factor II	Activado sobre la superficie de plaquetas activadas por el complejo de protrombinasa (Ca^{2+}, factores Va y Xa) (los factores II, VII, IX y X son zimógenos que contienen Gla) (Gla = γ-carboxiglutamato)
Cofactores	
Factor VIII	Activado por trombina; el factor VIIIa es un cofactor en la activación de factor X por el factor IXa
Factor V	Activado por trombina; el factor Va es un cofactor en la activación de protrombina por el factor Xa
Factor hístico (factor III)	Una glucoproteína localizada en el subendotelio y expresada sobre monocitos estimulados para actuar como un cofactor para el factor VIIa
Fibrinógeno	
Factor I	Dividido por la trombina para formar coágulo de fibrina
Transglutaminasa dependiente de tiol	
Factor XIII	Activado por la trombina; estabiliza el coágulo de fibrina mediante enlaces cruzados covalentes
Proteínas reguladoras y de otros tipos	
Proteína C	Activado hacia proteína C (APC) por la trombina unida a trombomodulina; después degrada los factores VIIIa y Va
Proteína S	Actúa como un cofactor de la proteína C; ambas proteínas contienen residuos Gla (γ-carboxiglutamato)
Trombomodulina	Proteína sobre la superficie de células endoteliales; se une a trombina, que después activa a la proteína C

factor Xa y protrombina. El montaje de los complejos de protrombinasa y tenasa tiene lugar sobre la superficie de membrana de las plaquetas activadas para exponer el fosfolípido acídico (aniónico) **fosfatidilserina**, que en circunstancias normales está en el lado interno de la membrana plasmática de plaquetas en reposo, no activadas.

El **factor V** (330 kDa), una glucoproteína con homología con el factor VIII y la ceruloplasmina, se sintetiza en el hígado, el bazo y los riñones, y se encuentra en plaquetas, así como en el

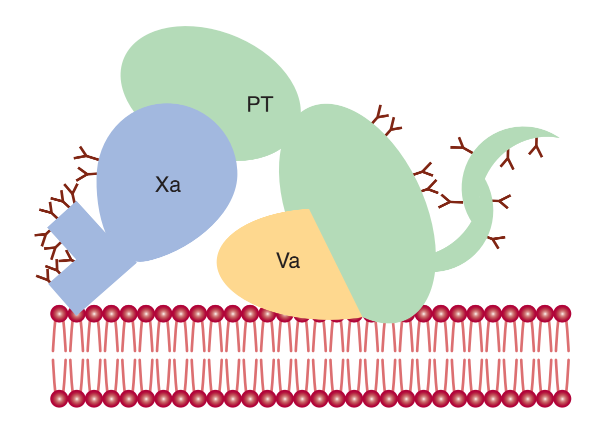


FIGURA 51–3 Representación esquemática (no a escala) de la unión de los factores Va, Xa y protrombina (PT) a la membrana plasmática de la plaqueta activada. Un tema fundamental en la coagulación de la sangre es el montaje de complejos proteínicos sobre las superficies de membrana. Residuos gamma-carboxiglutamato (indicados por Y) sobre proteínas dependientes de vitamina K se unen al calcio y contribuyen a la exposición de sitios de unión de membrana en estas proteínas. (Adaptada, con autorización, de Furie B, Furie BC: The molecular basis of blood coagulation. Cell 1988;53:505.)

plasma. Funciona como un cofactor de manera similar a la del factor VIII en el complejo de tenasa. Cuando se activa hacia **factor Va** por trazas de trombina, se une de manera específica a la membrana plaquetaria (**figura 51-3**) y forma un complejo con factor Xa y protrombina. Después se desactiva mediante proteína C (ver adelante), lo que proporciona un medio de limitar la activación de protrombina hacia trombina. La **protrombina** (72 kDa; figura 51-3) es una glucoproteína de cadena única sintetizada en el hígado. La región amino terminal de la protrombina (figura 51-2) contiene 10 residuos Gla, y el sitio de proteasa activa dependiente de serina está en el dominio catalítico cerca de la región carboxilo terminal de la molécula. En el momento de unión al complejo de factores Va y Xa sobre la membrana plaquetaria (figura 51-3), el factor Xa divide la protrombina en dos sitios para generar la molécula de trombina de dos cadenas, activa, que a continuación se libera desde la superficie plaquetaria.

La conversión de fibrinógeno en fibrina es catalizada por la trombina

La **trombina**, producida por el complejo de protrombinasa, además de tener un potente efecto estimulador sobre las plaquetas (véase más adelante), **convierte el fibrinógeno en fibrina** (figura 51-1). El **fibrinógeno** (factor I, 340 kDa; figuras 51-1 y 51-4; cuadros 51-1 y 51-2) es una glucoproteína plasmática soluble que consta de tres pares no idénticos de cadenas polipeptídicas $(A\alpha, B\beta, \gamma)_2$ enlazadas de manera covalente por enlaces disulfuro. Las cadenas Bβ y γ contienen oligosacáridos complejos enlazados a asparagina. Las tres cadenas se sintetizan en el hígado; los tres genes están en el mismo cromosoma, y su expresión está regulada de manera coordinada en seres humanos. Las regiones amino terminal de las seis cadenas se mantienen en estrecha proximidad mediante varios enlaces disulfuro, mientras que las regiones carboxilo terminal se separan, lo que da lugar a una molécula alargada, muy asimétrica (**figura 51-4**). Las porciones

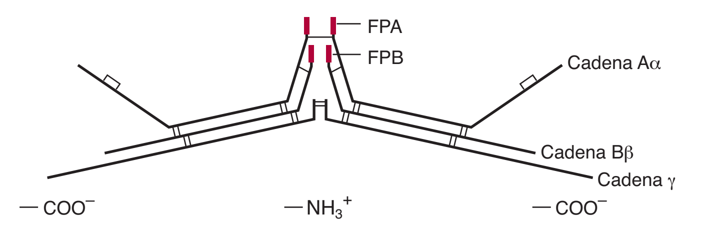


FIGURA 51–4 Representación esquemática (no a escala) del fibrinógeno, que muestra pares de cadenas Aα, Bβ y γ unidas mediante enlaces disulfuro. (FPA, fibrinopéptido A; FPB, fibrinopéptido B.)

Aα y Bβ de las cadenas A y B, designadas **fibropéptido A** (**FPA**) y **fibrinopéptido B** (**FPB**), respectivamente, en los extremos amino terminal de las cadenas, portan cargas negativas excesivas como resultado de la presencia de residuos aspartato y glutamato, así como un *O*-sulfato tirosina poco común en FPB. Estas cargas negativas contribuyen a la solubilidad del fibrinógeno en el plasma, y sirven también para prevenir la agregación al causar repulsión electrostática entre moléculas de fibrinógeno.

La **trombina** (34 kDa), una serina proteasa formada por el complejo de protrombinasa, hidroliza los cuatro enlaces Arg-Gli entre los fibrinopéptidos y las porciones α y β de las cadenas Aα y Bβ del fibrinógeno (**figura 51-5A**). La liberación de los fibrinopéptidos por la trombina genera **monómero de fibrina**, que tiene la estructura de subunidad $(\alpha, \beta, \gamma)_2$. Dado que el FPA y FPB sólo contienen 16 y 14 residuos, respectivamente, la molécula de fibrina retiene 98% de los residuos presentes en el fibrinógeno. La eliminación de los fibrinopéptidos expone sitios de unión que permiten que las moléculas de monómeros de fibrina se agreguen de manera espontánea en una disposición regularmente escalonada, lo que forma un coágulo de fibrina insoluble. Este coágulo de fibrina inicial es más bien débil; sólo se mantiene junto por la asociación no covalente de monómeros de fibrina.

Además de convertir el fibrinógeno en fibrina, la trombina también convierte el **factor XIII en factor XIIIa**. Este último es una **transglutaminasa** altamente específica que forma enlaces covalentes entre moléculas de fibrina al formar enlaces peptídicos entre los grupos amida de la glutamina y los grupos ε-amino de residuos de lisina (**figura 51-5B**), lo que produce un coágulo de fibrina más estable con resistencia aumentada a la proteólisis. Esta red de fibrina sirve para estabilizar el tapón hemostático o trombo.

Las concentraciones de trombina circulantes se controlan con sumo cuidado

Una vez que se forma trombina activa en el transcurso de hemostasia o trombosis, su concentración se debe controlar con sumo cuidado para prevenir formación de fibrina o activación de plaquetas adicional. Esto se logra de **dos maneras**. La trombina circula como su precursor inactivo, protrombina, que se activa como resultado de una cascada de reacciones enzimáticas, cada una de las cuales convierte un zimógeno inactivo en una enzima activa y lleva finalmente a la conversión de protrombina en trombina (figura 51-1). En cada punto en la cascada, **mecanismos de retroacción** producen un delicado equilibrio de activación e inhibición. La concentración de factor XII en el plasma es de aproximadamente 30 μg/ml, mientras que la de fibrinógeno es de 3 mg/ml; la concentración de los factores de la coagulación intermedios aumenta a medida que se procede por la cascada, lo que muestra que la cascada de coagulación proporciona **amplificación**. El segundo medio de controlar la actividad de trombina es **la desactivación de cualquier trombina** formada por **inhibidores circulantes**, el más importante de los cuales es la antitrombina (véase más adelante).

La heparina aumenta la actividad de la antitrombina, un inhibidor de la trombina

En el plasma normal hay **cuatro inhibidores de trombina** naturales. El más importante es la **antitrombina**, que contribuye con aproximadamente 75% de la actividad antitrombina. La antitrombina también puede inhibir las actividades de los factores IXa, Xa, XIa, XIIa y VIIa que forman complejos con el factor hístico.

A

Trombina

NH_3^+ — Arg — Gli — COO⁻

Fibrinopéptido (A o B) — Cadena de fibrina (α o β)

B

Fibrina — CH_2 — CH_2 — CH_2 — CH_2 — NH_3^+ (Lisil) H_2N — C(=O) — CH_2 — CH_2 — Fibrina (Glutaminil)

NH_4^+ Factor XIIIa (transglutaminasa)

Fibrina — CH_2 — CH_2 — CH_2 — CH_2 — NH — C(=O) — CH_2 — CH_2 — Fibrina

FIGURA 51–5 Formación de un coágulo de fibrina. (A) División, inducida por trombina, de enlaces Arg-Gli de las cadenas Aα y Bβ del fibrinógeno para producir fibrinopéptidos (lado izquierdo) y las cadenas α y β del monómero de fibrina (lado derecho). **(B)** Entrecruzamiento de moléculas de fibrina por factor XIII activado (factor XIIIa).

La **α_2-macroglobulina** contribuye con la mayor parte del resto de la actividad antitrombina; el **cofactor II heparina** y la **α_1-antitripsina** actúan como inhibidores menores en condiciones fisiológicas.

La presencia de glucosaminoglucanos sulfatados (heparanos) potencia mucho la actividad endógena de la antitrombina (cap. 48). Los glucosaminoglucanos sulfatados se unen a un sitio catiónico específico de la antitrombina, lo que induce un cambio conformacional y promueve su unión a la trombina, así como a sus otros sustratos. Ésta es la base para el uso de la **heparina**, un heparán derivatizado, en medicina clínica para inhibir la coagulación. Los efectos anticoagulantes de la heparina pueden antagonizarse por medio de polipéptidos fuertemente catiónicos como la **protamina**, que se une fuertemente a la heparina, lo que, de este modo, inhibe su unión a la antitrombina.

Las **heparinas de bajo peso molecular** (**LMWH**), derivadas de la división enzimática o química de heparina no fraccionada, están encontrando uso clínico cada vez mayor. Pueden administrarse por vía subcutánea en el hogar, tienen mayor biodisponibilidad que la heparina no fraccionada, y no necesitan vigilancia frecuente de laboratorio.

Los individuos con **deficiencias hereditarias de antitrombina** están propensos a trombosis venosa, lo que proporciona evidencia de que la antitrombina tiene una función fisiológica, y de que el sistema de coagulación en seres humanos normalmente se encuentra en un estado dinámico.

La **trombina** participa en otro mecanismo regulador que opera en la coagulación. Se combina con la **trombomodulina**, una glucoproteína presente sobre las superficies de células endoteliales. El complejo activa a la **proteína C** sobre el **receptor de proteína C endotelial**. En combinación con la **proteína S**, la proteína C activada (APC) degrada los factores Va y VIIIa, lo que limita sus acciones en la coagulación. Una deficiencia genética de proteína C o S puede causar trombosis venosa. Además, los pacientes con **factor V Leiden** (que tiene un residuo glutamina en lugar de arginina en la posición 506) tienen riesgo aumentado de enfermedad trombótica venosa porque el factor V Leiden es resistente a la desactivación por APC. Este estado se llama resistencia a APC.

Los anticoagulantes cumarina inhiben la carboxilación de los factores II, VII, IX y X dependiente de vitamina K

Los **fármacos cumarina** (p. ej., warfarina), que se usan como anticoagulantes, inhiben la carboxilación, dependiente de vitamina K, de residuos Glu a Gla (cap. 44) en las regiones amino terminal de los factores II, VII, IX y X, y en las proteínas C y S. Estas proteínas, todas las cuales se sintetizan en el hígado, son dependientes de las propiedades de unión a Ca^{2+} de los residuos Gla para su función normal en las vías de la coagulación. Las cumarinas actúan **al inhibir la reducción de los derivados quinona de la vitamina K hacia las formas hidroquinona activas** (cap. 44). De este modo, la administración de vitamina K evitará la inhibición inducida por cumarina, y permitirá que ocurra la modificación postraduccional de la carboxilación. La **reversión** de la inhibición por cumarina mediante vitamina K requiere 12 a 24 h, mientras que la reversión de los efectos anticoagulantes de la heparina mediante protamina es casi instantánea.

La **heparina** y la **warfarina** se usan ampliamente en el tratamiento de estados trombóticos y tromboembólicos, como trombosis venosa profunda y embolia pulmonar. La heparina se administra primero, debido a su inicio de acción expedito, mientras que la warfarina tarda varios días en alcanzar el efecto completo. Sus efectos se vigilan de manera estrecha mediante el uso de pruebas de coagulación apropiadas (véase más adelante) debido al riesgo de producir hemorragia.

Nuevos inhibidores de la trombina **por vía oral** (dabigatrán) o del factor Xa (rivaroxabán y otros) también se usan en el tratamiento de enfermedades trombóticas.

Hay varios trastornos hemorrágicos hereditarios, entre ellos la hemofilia A

En seres humanos se encuentran **deficiencias hereditarias** del sistema de la coagulación que dan lugar a sangrado. La deficiencia más común es la deficiencia del factor VIII, que causa **hemofilia A**, una enfermedad enlazada al cromosoma X. La **hemofilia B**, **también enlazada al cromosoma X**, se debe a deficiencia del factor IX, y recientemente se ha identificado como la forma de hemofilia que tuvo un papel importante en la historia de las familias reales de Europa; sus características clínicas son casi idénticas a las de la hemofilia A, pero las enfermedades pueden separarse con base en análisis específicos que distinguen entre los dos factores.

El **gen que codifica para el factor VIII** del ser humano se ha clonado, y es uno de los más grandes estudiados hasta ahora; mide 186 kb de longitud y contiene 26 exones. Se han detectado diversas mutaciones en los genes que codifican para los factores VIII y IX, y llevan a actividades disminuidas de las proteínas factores VIII y IX; éstas incluyen deleciones parciales de gen y mutaciones puntuales y sin sentido. Ahora es posible el **diagnóstico prenatal** mediante análisis de DNA después de muestreo de vellosidades coriónicas.

En el pasado, el tratamiento para pacientes con hemofilia A y B constaba de la administración de **crioprecipitados** (enriquecidos en factor VIII) preparados a partir de donadores individuales o **concentrados** de factor VIII o IX liofilizado preparado a partir de fondos comunes de plasma muy grandes. Ahora es posible preparar factores VIII y IX por medio de **tecnología de DNA recombinante**. Esas preparaciones están libres de virus contaminantes (p. ej., de hepatitis A, B, C, o HIV-1) que se encuentran en el plasma de seres humanos, pero son caras; su uso puede aumentar si el costo de producción disminuye.

El trastorno hemorragíparo hereditario más frecuente es la **enfermedad de von Willebrand**, con una prevalencia de hasta 1% de la población. Se produce por una deficiencia o un defecto del **factor de von Willebrand**, glucoproteína multimérica grande que se secreta por las células endoteliales y las plaquetas hacia el plasma, donde estabiliza el factor VIII. El factor de von Willebrand también promueve la adherencia de plaquetas en el sitio de lesión de la pared del vaso (véase más adelante).

La plasmina disuelve coágulos de fibrina

Como se mencionó, el sistema de coagulación normalmente se encuentra en un estado de equilibrio dinámico en el cual de modo

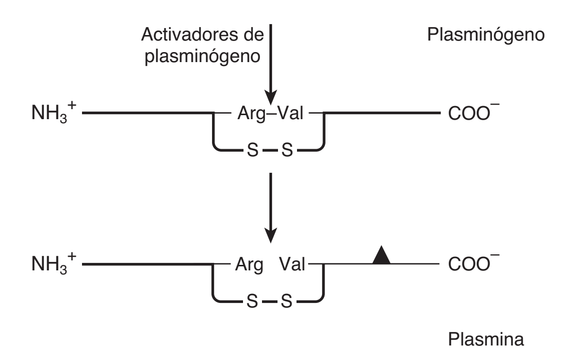


FIGURA 51–6 **Activación del plasminógeno.** Todos los activadores del plasminógeno dividen el mismo enlace Arg-Val para dar la molécula de plasmina de dos cadenas. El triángulo indica el residuo serina del sitio activo. Las dos cadenas de plasmina se mantienen juntas mediante un puente disulfuro.

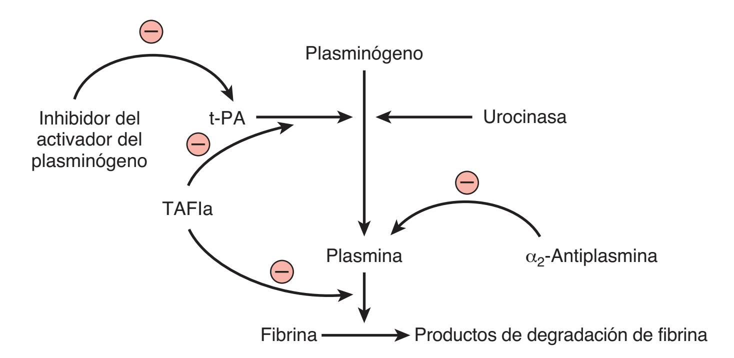


FIGURA 51–7 **Inicio de la fibrinólisis mediante la activación de plasmina.** Esquema de sitios de acción de activador del plasminógeno hístico (t-PA), urocinasa, inhibidor del activador del plasminógeno, α_2-antiplasmina e inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina (TAFIa) (las tres últimas proteínas ejercen acciones inhibidoras).

constante se están depositando y disolviendo coágulos de fibrina. Este último proceso se llama **fibrinólisis**. La **plasmina**, la serina proteasa que se encarga principalmente de degradar fibrina y fibrinógeno, circula en forma de su zimógeno inactivo, el **plasminógeno** (90 kDa), y cualquier cantidad pequeña de plasmina que se forma en la fase líquida en condiciones fisiológicas se desactiva con rapidez por el inhibidor de plasmina de acción rápida, α_2-antiplasmina. El plasminógeno se une a la fibrina y, así, queda incorporado en coágulos a medida que se producen; puesto que la plasmina que se forma cuando está unida a fibrina, está protegida contra la α_2-antiplasmina, permanece activa. Los **activadores del plasminógeno** de diversos tipos se encuentran en casi todos los tejidos del cuerpo, y todos dividen el mismo enlace Arg-Val en el plasminógeno para producir la serina proteasa de dos cadenas, plasmina (**figura 51-6**). La **especificidad de la plasmina para la fibrina** es otro mecanismo que regula la fibrinólisis. Por medio de uno de sus dominios kringle o en rosquilla, la plasmina(ógeno) se une de manera específica a residuos lisina en la fibrina y, así, se incorpora cada vez más hacia la red de fibrina a medida que la divide. (Los dominios kringle [figura 51-2] son motivos de proteína comunes de alrededor de 100 residuos aminoácido de longitud, que tienen una estructura covalente característica definida por un modelo de tres enlaces disulfuro.) De este modo, la carboxipeptidasa **TAFIa** (**inhibidor de fibrinólisis activable por trombina activada**) (**figura 51-7**), que elimina lisinas terminales de la fibrina, también puede inhibir la fibrinólisis. La trombina activa el TAFI hacia TAFIa, lo que inhibe la fibrinólisis durante la formación de coágulo.

El **activador del plasminógeno hístico** (**t-PA**) (figuras 51-2 y 51-7) es una serina proteasa que se libera hacia la circulación desde el endotelio vascular en condiciones de lesión o estrés, y es inactivo desde el punto de vista catalítico a menos que esté unido a fibrina. En el momento de la unión a fibrina, el t-PA divide el plasminógeno dentro del coágulo para generar plasmina, que a su vez digiere la fibrina para formar productos de degradación solubles y, así, disuelve el coágulo. Ni la plasmina ni el activador del plasminógeno pueden permanecer unidos a estos productos de degradación y, así, se liberan hacia la fase líquida, donde sus inhibidores naturales los desactivan. La prourocinasa es el precursor de un segundo activador del plasminógeno, la **urocinasa**. Originalmente aislada a partir de la orina, ahora se sabe que se sintetiza en muchos tipos de células, como monocitos y macrófagos, fibroblastos, y células epiteliales. Su principal acción quizá es la degradación de la matriz extracelular. En la figura 51-7 se indican los sitios de acción de cinco proteínas que influyen sobre la formación y acción de la plasmina.

El t-PA recombinante y la estreptocinasa se usan para deshacer coágulos

La **alteplasa**, t-PA producido mediante tecnología de DNA recombinante, se usa de modo terapéutico como un agente fibrinolítico, al igual que la **estreptocinasa**. Sin embargo, esta última es menos selectiva que el t-PA, al activar el plasminógeno en la fase líquida (donde puede degradar fibrinógeno circulante), así como plasminógeno unido a un coágulo de fibrina. La cantidad de plasmina producida mediante dosis terapéuticas de estreptocinasa puede exceder la capacidad de la α_2-antiplasmina circulante, lo que hace que el fibrinógeno, así como la fibrina, se degraden, y da por resultado el sangrado que suele encontrarse durante la terapia fibrinolítica. Debido a su **selectividad** relativa para degradar fibrina, el t-PA recombinante se ha usado ampliamente para restituir la permeabilidad de arterias coronarias después de trombosis. Si se administra en etapas lo bastante tempranas, antes de que ocurra daño irreversible del músculo cardiaco (alrededor de 6 h después del inicio de la trombosis), el t-PA puede reducir de manera importante la mortalidad por daño miocárdico después de trombosis coronaria. La estreptocinasa también se ha usado ampliamente en el tratamiento de trombosis coronaria, pero tiene la desventaja de ser antigénica.

El t-PA también se ha usado en el tratamiento de apoplejía isquémica, oclusión arterial periférica y embolia pulmonar.

Hay varios trastornos, entre ellos el cáncer y la sepsis, en los cuales **aumentan las concentraciones de activadores del plasminógeno**. Además, las **actividades antiplasmina** aportadas por la α_1-antitripsina y la α_2-antiplasmina pueden estar alteradas en enfermedades como la cirrosis. Dado que ciertos productos bacterianos, como la estreptocinasa, tienen la capacidad de activar el plasminógeno, quizá sean la causa de la hemorragia difusa que a veces se observa en pacientes con infecciones bacterianas diseminadas.

La agregación plaquetaria requiere emisión de señales transmembrana de afuera hacia adentro y de adentro hacia afuera

En circunstancias normales las plaquetas circulan en forma de disco no estimulada. Durante la hemostasis o trombosis, se **activan** y ayudan a formar tapones hemostáticos o trombos. Participan tres pasos principales: 1) adherencia de colágeno expuesto en vasos sanguíneos, 2) liberación (exocitosis) del contenido de sus gránulos de almacenamiento y 3) agregación.

Las plaquetas se adhieren al colágeno por medio de receptores específicos sobre la superficie plaquetaria, incluso los complejos de glucoproteína GPIa–IIa (α2β1 integrina; cap. 52) y GPIb–IX–V y GPVI. La unión de GPIb–IX–V al colágeno está mediada por el factor de von Willebrand; esta interacción es en especial importante en la adherencia de plaquetas al subendotelio en las condiciones de tensión de corte alta que ocurren en vasos de pequeño calibre y arterias parcialmente estenosadas.

Las plaquetas adherentes al colágeno cambian de forma y se esparcen sobre el endotelio. Liberan el contenido de sus **gránulos de almacenamiento** (los gránulos densos y los gránulos alfa); la trombina también estimula la secreción.

La **trombina**, que se forma a partir de la cascada de la coagulación, es el activador más potente de las plaquetas, e inicia la activación al interactuar con su PAR (receptor activado por proteasa)-1, PAR-4 y GPIb–IX–V sobre la membrana plasmática de las plaquetas (**figura 51-8A**). Los eventos adicionales que llevan a la activación de plaquetas en el momento de la unión a PAR-1 y PAR-4 son ejemplos de **emisión de señales transmembrana** de afuera adentro, en la cual un mensajero químico fuera de las células genera moléculas efectoras dentro de la célula. En este caso, la trombina actúa como el mensajero químico externo (estímulo o agonista). La interacción de la trombina con sus receptores acoplados a proteína G PAR-1 y PAR-4 estimula la actividad de una **fosfolipasa Cβ** intracelular. Esta enzima hidroliza el fosfolípido de membrana **fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato** (PIP_2, una fosfoinositida) para formar las dos moléculas efectoras internas, 1,2-diacilglicerol y 1,4,5-trifosfato de inositol.

La hidrólisis del PIP_2 también está comprendida en la acción de muchas hormonas y fármacos. El diacilglicerol estimula a la **proteína cinasa C**, que fosforila la proteína **pleckstrina** (47 kDa). Esto da por resultado agregación y liberación del contenido de los gránulos de almacenamiento. El ADP liberado a partir de gránulos densos también puede activar plaquetas mediante sus receptores acoplados a proteína G específicos (figura 51-8A), lo que origina agregación de plaquetas adicionales. El **IP_3** causa liberación de Ca^{2+} hacia el citosol, principalmente a partir del sistema tubular denso (sobre el retículo endoplásmico liso residual del megacariocito), que después interactúa con calmodulina y cadena ligera de miosina cinasa, lo que lleva a fosforilación de las cadenas ligeras de la miosina. Estas cadenas después interactúan con la actina, lo que causa cambios de la forma de la plaqueta.

La activación (inducida por colágeno) de una **fosfolipasa A_2 citosólica** de plaquetas, mediante concentración aumentada de Ca^{2+} intracelular, da lugar a liberación de ácido araquidónico a partir de fosfolípidos de la membrana plaquetaria, lo que lleva a la formación de **tromboxano A_2** (cap. 23). El tromboxano A_2, a su vez, al unirse a su receptor de TP acoplado a proteína G puede activar más la fosfolipasa C, lo que promueve la agregación plaquetaria (figura 51-8A).

Las plaquetas activadas, además de formar un agregado de plaquetas, aceleran la **activación del factor X y de la protrombina** al exponer el fosfolípido aniónico fosfatidilserina sobre su superficie de membrana (figura 51-1).

Todos los **agentes agregantes**, incluso la trombina, el colágeno, el ADP y otros, como el factor activador de plaquetas, por medio de una vía de emisión de señales de adentro hacia afuera, modifican el **complejo de glucoproteína GPIIb-IIIa** (αIIbβ3; cap. 52) de la superficie plaquetaria, de modo que el receptor tiene afinidad más alta por el **fibrinógeno** o por el **factor de von Willebrand** (**figura 51-8B**). A continuación, las moléculas de fibrinógeno divalente, o de factor de von Willebrand multivalente, enlazan entre sí plaquetas activadas adyacentes, lo que forma un agregado de plaquetas. La agregación plaquetaria mediada por factor de von Willebrand ocurre en condiciones de tensión de corte alta. Algunos agentes, entre ellos epinefrina, serotonina y vasopresina, ejercen efectos sinérgicos con otros agentes agregantes.

Las células endoteliales sintetizan prostaciclina y otros compuestos que afectan la coagulación y la trombosis

Las **células endoteliales** en las paredes de vasos sanguíneos hacen contribuciones importantes a la regulación general de la hemostasia y la trombosis. Estas células sintetizan el prostanoide **prostaciclina** (PGI_2), un potente inhibidor de la agregación plaquetaria (cap. 23). La prostaciclina actúa al estimular la actividad de la adenilil ciclasa en las membranas de superficie de plaquetas por medio de su receptor acoplado a proteína G (figura 51-8A). El aumento resultante del **cAMP** intraplaquetario se opone al incremento de la concentración de Ca^{2+} intracelular producido por el IP_3 y, así, inhibe la activación de plaquetas. Esto contrasta con el efecto del prostanoide tromboxano A_2, formado por plaquetas activadas, que es el de promover la agregación. Las células endoteliales desempeñan otras funciones en la regulación de la trombosis; por ejemplo, poseen una **ADPasa**, que hidroliza ADP y, así, se opone al efecto agregante sobre plaquetas. Además, estas células parecen sintetizar **heparán sulfato**, un anticoagulante, y sintetizan también **activadores del plasminógeno**, que pueden ayudar a disolver trombos. En el **cuadro 51-3** se listan algunas moléculas producidas por las células endoteliales, que afectan a la trombosis y la fibrinólisis. El **óxido nítrico** (factor relajante derivado del endotelio) se comenta en el capítulo 49.

El análisis de los mecanismos de **captación de lipoproteínas aterogénicas**, como LDL, mediante células endoteliales, de músculo liso y células monocíticas de arterias, junto con estudios detallados de cómo estas lipoproteínas dañan esas células, es un área clave de estudio en la elucidación de los mecanismos de la **aterosclerosis** (cap. 26).

La aspirina es uno de varios antiplaquetarios eficaces

Ciertos **fármacos** (antiplaquetarios) inhiben las respuestas de las plaquetas. El antiplaquetario de uso más frecuente es la **aspirina**

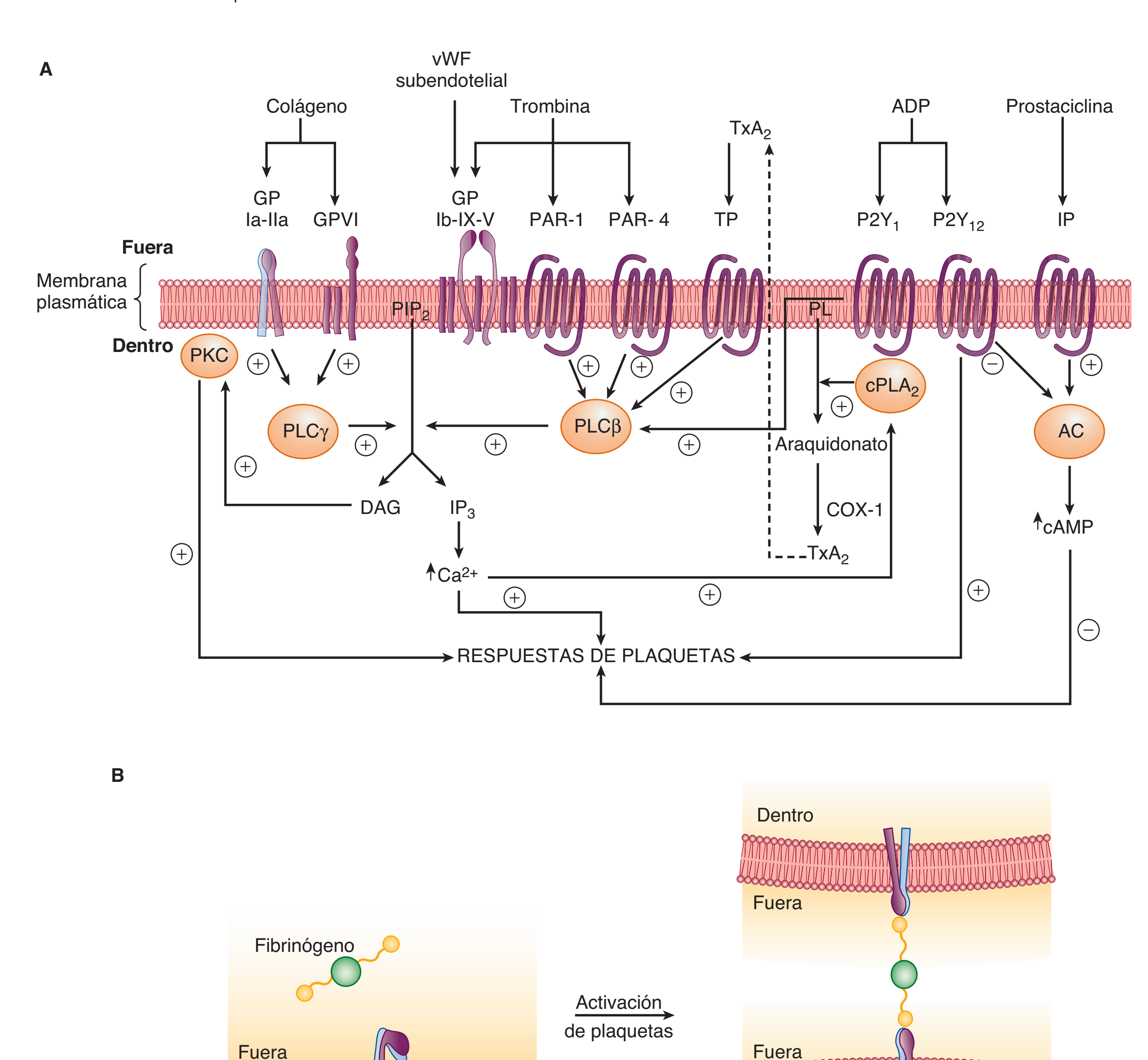


FIGURA 51–8 **(A) Diagrama de la activación plaquetaria por colágeno, trombina, tromboxano A_2 y ADP, e inhibición por prostaciclina.** El ambiente externo, la membrana plasmática, y el interior de una plaqueta se describen de arriba abajo. La respuesta de las plaquetas comprende, dependiendo del agonista, cambio de la forma de las plaquetas, liberación del contenido de los gránulos de almacenamiento, y agregación. (AC, adenilil ciclasa; cAMP, AMP cíclico; COX-1 ciclooxigenasa-1; $cPLA_2$, fosfolipasa A_2 citosólica; DAG, 1,2-diacilglicerol; GP, glucoproteína; IP, receptor de prostaciclina; IP_3, inositol 1,4,5-trifosfato; $P2Y_1$, $P2Y_{12}$, purinoceptores; PAR, receptor activado por proteasa; PIP_2, fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato; PKC, proteína cinasa C; PL, fosfolípido; PLCβ, fosfolipasa Cβ; PLCγ, fosfolipasa Cγ; TP, receptor de tromboxano A_2; TxA_2, tromboxano A_2; vWF, factor de von Willebrand.) Las proteínas G que están involucradas no se muestran. **(B) Diagrama de la agregación plaquetaria mediada por unión de fibrinógeno a moléculas de GPIIb-IIIa activadas sobre plaquetas adyacentes.** Los eventos de emisión de señales iniciados por todos los agentes antiagregantes transforman la GPIIb-IIIa desde su estado en reposo hacia una forma activa que puede unirse a fibrinógeno divalente o factor de von Willebrand multivalente a la tensión de corte alta que ocurre en vasos de pequeño calibre.

(ácido acetilsalicílico), que acetila de manera irreversible y, así, inhibe el sistema de ciclooxigenasa (COX-1) plaquetario involucrado en la formación de tromboxano A_2 (cap. 15), un potente agregador de plaquetas, y vasoconstrictor. Las plaquetas son muy sensibles a la aspirina; apenas 30 mg/día (una tableta regular de aspirina contiene 325 mg) eliminan con eficacia la síntesis de tromboxano A_2. La aspirina también inhibe la producción de prostaciclina (PGI_2, que se opone a la agregación plaquetaria y es un

CUADRO 51–3 Moléculas sintetizadas por las células endoteliales que participan en la regulación de la trombosis y fibrinólisis

Molécula	Acción
ADPasa (CD39, una ectoenzima)	Degrada ADP (un agente agregante de plaquetas) hacia AMP + P_i
Óxido nítrico (NO)	Inhibe la adherencia y agregación plaquetarias al aumentar las concentraciones de cGMP
Prostaciclina (PGI_2, una prostaglandina)	Inhibe la agregación plaquetaria al aumentar las concentraciones de cAMP
Trombomodulina (una glucoproteína)	Se une a la trombina, que después divide la proteína C, para dar proteína C activada; esto, en combinación con la proteína S, degrada los factores Va y VIIIa, lo que limita sus acciones
Receptor de proteína C endotelial (EPCR, una glucoproteína)	Facilita la activación de proteína C mediante el complejo de trombina-trombomodulina
Activador del plasminógeno hístico (t-PA, una proteasa)	Activa el plasminógeno hacia plasmina, que digiere fibrina; el inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) se opone a la acción del t-PA

Fuente: Adaptado con autorización de Wu KK: Endothelial cells in hemostasis, thrombosis and inflammation. Hosp Pract (Off Ed) 1992;27:145.

vasodilatador) por las células endoteliales, pero a diferencia de las plaquetas, estas células regeneran ciclooxigenasa en el transcurso de algunas horas. Así, el equilibrio general entre tromboxano A_2 y prostaciclina puede desviarse a favor de esta última, lo que se opone a la agregación plaquetaria. De esta manera, las indicaciones para el tratamiento con aspirina comprenden manejo de síndromes coronarios agudos (angina, infarto de miocardio), síndromes de apoplejía aguda (ataques isquémicos cerebrales transitorios, apoplejía isquémica aguda), estenosis grave de la arteria carótida, y prevención primaria de éstas y otras enfermedades aterotrombóticas.

Otros antiplaquetarios comprenden el clopidogrel, un inhibidor específico del receptor $P2Y_{12}$ para ADP, y antagonistas de la unión de ligando a GPIIb–IIIa (p. ej., abciximab) que interfieren con la unión de fibrinógeno y factor de von Willebrand y, así, con la agregación plaquetaria.

Los análisis de laboratorio miden la coagulación, la trombólisis y la agregación plaquetaria

Se dispone de varios **análisis de laboratorio** para medir las fases de la hemostasia antes descritas, e incluyen recuento plaquetario, tiempo de sangrado/cierre, agregación plaquetaria, tiempo de tromboplastina parcial activada (aPTT o PTT), tiempo de protrombina (PT), tiempo de trombina (TT), concentración de fibrinógeno, estabilidad del coágulo de fibrina, y medición de los productos de la degradación de la fibrina. El **recuento plaquetario** cuantifica el número de plaquetas. El **tiempo de sangrado de la piel** es un análisis general de la función de las plaquetas y de la pared de los vasos, mientras el **tiempo de cierre** que se mide usando el analizador de la función plaquetaria PFA-100 es un análisis *in vitro* de la hemostasia relacionada con plaquetas. La **agregación plaquetaria** mide respuestas a agentes agregantes específicos. El **aPTT** es una medida de la vía intrínseca, y el **PT**, de la vía extrínseca; el aPTT se usa para vigilar la terapia con heparina, y el PT, para medir la eficacia de anticoagulantes orales como la warfarina. El lector encontrará una exposición sobre estos análisis en un tratado de hematología.

RESUMEN

- La hemostasia y la trombosis son procesos complejos que comprenden factores de la coagulación, plaquetas y vasos sanguíneos.
- Muchos factores de la coagulación son zimógenos de serina proteasas, que quedan activados y luego inactivados durante el proceso general.
- Hay vías tanto extrínseca como intrínseca de la coagulación; la primera se inicia *in vivo* mediante el factor hístico. Las vías convergen en el factor Xa, y finalmente dan por resultado conversión, catalizada por trombina, de fibrinógeno en fibrina, que se fortalece mediante la formación de enlaces cruzados covalentes, catalizada por el factor XIIIa.
- Ocurren trastornos genéticos que llevan a sangrado; los principales comprenden el factor VIII (hemofilia A), factor IX (hemofilia B) y factor de von Willebrand (enfermedad de von Willebrand).
- La antitrombina es un importante inhibidor natural de la coagulación; la deficiencia genética de esta proteína puede dar por resultado trombosis.
- Para su actividad, los factores II, VII, IX y X, y las proteínas C y S, requieren γ-carboxilación, dependiente de vitamina K, de ciertos residuos glutamato, proceso que se inhibe mediante el anticoagulante warfarina.
- La plasmina disuelve la fibrina. La plasmina existe como un precursor inactivo, el plasminógeno, que puede ser activado por el activador del plasminógeno hístico (t-PA). Tanto el t-PA como la estreptocinasa se usan ampliamente para tratar trombosis temprana en las arterias coronarias.
- La trombina y otros agentes causan agregación plaquetaria, que comprende diversos eventos bioquímicos y morfológicos. La estimulación de la fosfolipasa C y de la vía de la fosfoinositida es un elemento clave en la activación de plaquetas, pero también participan otros procesos.
- La aspirina es un importante antiplaquetario que actúa al inhibir la producción de tromboxano A_2.

REFERENCIAS

Colman RW, Marder VJ, Clowes AW, et al (editors): *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2006.

Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, et al: *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 17th ed. McGraw-Hill, 2008.

Hoffman R, Benz Jr EJ, Shattil SJ, et al (editors): *Hematology: Basic Principles and Practice,* 4th ed. Elsevier Churchill Livingston, 2005.

Israels SJ (editor): *Mechanisms in Hematology,* 4th ed. Core Health Sciences Inc, 2011. (Este libro contiene muchas ilustraciones excelentes de los mecanismos básicos en hematología.)

Michelson AD (editor): *Platelets*, 2nd ed. Elsevier, 2007.

CAPÍTULO 52

Eritrocitos y leucocitos

Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Entender el concepto de células madre y su importancia.
- Resumir las causas de los principales trastornos de los eritrocitos.
- Discutir la estructura general de la membrana eritrocítica.
- Conocer las bases bioquímicas de las sustancias del grupo sanguíneo ABO.
- Indicar las principales características bioquímicas de los neutrófilos, y entender la base de la enfermedad granulomatosa crónica.
- Apreciar la importancia de las integrinas en la salud y enfermedad.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las células sanguíneas se han estudiado de manera intensiva porque se obtienen con facilidad, así como debido a su importancia funcional, y a su participación en muchos procesos morbosos. La estructura y función de la **hemoglobina**, las **porfirias**, **ictericia**, y aspectos del **metabolismo del hierro** se comentaron en capítulos previos. En el **cuadro 52-1** se resumen las causas de diversas enfermedades importantes que afectan a los eritrocitos; algunas se comentan en este capítulo, y el resto, en otras secciones de este libro. La **anemia** es un estado muy prevaleciente que tiene muchas causas. El **descubrimiento de las causas de ciertos tipos de anemias** (p. ej., de anemia perniciosa [una forma de anemia por deficiencia de vitamina B_{12}] y de anemia de células falciformes) ha sido un área donde la relación recíproca entre medicina y bioquímica, a la cual se hizo referencia en el capítulo 1, ha sido en extremo beneficiosa. La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la **anemia** como una concentración de hemoglobina con <130 g/L en varones y <120 g/L en mujeres. Hay muchas causas de anemia; aquí sólo se mencionan las más importantes desde el punto de vista bioquímico. El **cuadro 52-2** presenta una clasificación simplificada de las causas de anemia. Se ha estimado que anualmente nacen alrededor de 300 000 niños con un trastorno hereditario grave de la hemoglobina, la mayoría en países de ingreso bajo o medio. Dado que la mortalidad de lactantes está disminuyendo, muchos de estos niños sobrevivirán, lo cual planteará un problema de salud mundial. Algunos de los sistemas de **grupo sanguíneo**, presentes en las membranas de los eritrocitos y otras células sanguíneas, tienen extrema importancia en relación con la transfusión sanguínea y el trasplante de tejido. Cada órgano del cuerpo puede quedar afectado por **inflamación**; los neutrófilos desempeñan una función fundamental en la inflamación aguda, y otros leucocitos, como los linfocitos, tienen funciones importantes en la inflamación crónica. Las **leucemias**, definidas como neoplasias malignas de los tejidos formadores de sangre, pueden afectar células precursoras de cualquiera de las principales clases de leucocitos; los tipos frecuentes son leucemias mielocíticas aguda y crónica, que afectan a precursores de los neutrófilos, y leucemias linfocíticas aguda y crónica. El conocimiento de los mecanismos moleculares involucrados en la causa de las leucemias está aumentando con rapidez, pero no se comenta en este libro. La quimioterapia combinada, en la que se usan combinaciones de diversos quimioterápicos, todos los cuales actúan en uno o más *loci* bioquímicos, ha sido notoriamente eficaz en el tratamiento de algunos de estos tipos de leucemias. El entendimiento del papel de los eritrocitos y leucocitos en la salud y la enfermedad requiere un conocimiento de ciertos aspectos fundamentales de sus propiedades bioquímicas.

TODOS LOS ERITROCITOS SE DERIVAN DE CÉLULAS MADRE HEMATOPOYÉTICAS

En la **figura 52-1** se resume el origen de los diversos tipos de células sanguíneas a partir de **células madre hematopoyéticas**. La primera evidencia sólida de la existencia de células madre, y en particular de células madre hematopoyéticas, se informó a partir de estudios efectuados en ratones por Ernest McCulloch y James Till en 1963. En años recientes, el interés por las células madre ha crecido enormemente, y ahora son de interés para casi todas las áreas de la medicina y las ciencias de la salud. Una célula madre es una célula que tiene una capacidad singular para producir células hijas no alteradas (esto es, **autorrenovación**) y para generar tipos de células especializados (**potencia**). Las células madre pueden ser **totipotentes** (capaces de producir todas las células en un organismo), **pluripotentes** (capaces de diferen-

CUADRO 52–1 Resumen de las causas de algunos trastornos importantes que afectan a los eritrocitos

Trastorno	Causa única o importante
Anemia por deficiencia de hierro	Ingestión inadecuada o pérdida excesiva de hierro
Metahemoglobinemia	Ingestión excesiva de oxidantes (diversas sustancias químicas y fármacos) Deficiencia genética del sistema de metahemoglobina reductasa dependiente de NADH (OMIM 250800) Herencia de HbM (OMIM 141900)
Anemia de células falciformes (OMIM 603903)	Secuencia de codón 6 de la cadena β cambiada desde GAG en el gen normal hacia GTG en el gen de células falciformes, lo que da por resultado sustitución del ácido glutámico por valina
Talasemias α (OMIM 141800)	Mutaciones en los genes que codifican para globina α, principalmente entrecruzamiento desigual y deleciones grandes, y menos a menudo mutaciones sin sentido y por cambio de cuadro
Talasemia β (OMIM 141900)	Una variedad muy amplia de mutaciones en el gen que codifica para globina β, entre ellas deleciones, mutaciones sin sentido y por cambio de cuadro, y otras que afectan cada aspecto de su estructura (p. ej., sitios de empalme, mutantes promotores)
Anemias megaloblásticas	
Deficiencia de vitamina B_{12}	Absorción disminuida de vitamina B_{12}, a menudo debido a una deficiencia de factor intrínseco, normalmente secretado por las células parietales gástricas
Deficiencia de ácido fólico	Ingestión disminuida, absorción defectuosa, o demanda aumentada (p. ej., en el embarazo) de folato
Esferocitosis hereditaria[1] (OMIM 182900)	Deficiencias de la cantidad o de la estructura de α o β espectrina, anquirina, banda 3 o banda 4.1
Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD)[1] (OMIM 305900)	Diversas mutaciones en el gen (ligado a X) que codifica para G6PD, en su mayor parte mutaciones puntuales únicas
Deficiencia de piruvato cinasa (PK)[1] (OMIM 266200)	Diversas mutaciones en el gen que codifica para la isozima R (de eritrocito) de la PK
Hemoglobinuria paroxística nocturna[1] (OMIM 311770)	Mutaciones en el gen PIG-A, que afecta la síntesis de proteínas fijadas por GPI

[1] Los últimos cuatro trastornos causan anemias hemolíticas, al igual que varios de los otros trastornos listados. Casi todas las enfermedades anteriores se comentan en otros capítulos de este libro. Los números de la Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) sólo se aplican a trastornos que tienen una base genética.

ciarse hacia células de cualquiera de las tres capas germinales), **multipotentes** (que sólo producen células de una familia estrechamente relacionada) o **unipotentes** (que sólo producen un tipo de célula). Las células madre también se clasifican como **embrionarias** y de **adulto**; estas últimas tienen capacidad más limitada para diferenciarse que las primeras, aunque se están desarrollando métodos genéticos para superar esta restricción.

CUADRO 52–2 Una breve clasificación de las causas de anemia

A.	Pérdida de sangre: aguda, crónica
B.	Deficiencias que causan defectos de la eritropoyesis (p. ej., de hierro, folato, vitamina B_{12} y otros factores)
C.	Hemólisis: i. Debida a factores extrínsecos: por ejemplo, diversos anticuerpos, hemolisinas, venenos de serpiente, etcétera. ii. Debida a factores intrínsecos: Mutaciones en genes que codifican para proteínas de la membrana del eritrocito (p. ej., esferocitosis hereditaria y eliptocitosis hereditaria) Enzimopatías de los eritrocitos (p. ej., glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, piruvato cinasa y otras) Hemoglobinopatías (en particular HbS) y talasemias, infecciones parasitarias (p. ej., plasmodios en el paludismo)

Nota: En la figura 52-3 también se indican las causas de anemias hemolíticas. En la anemia, los eritrocitos pueden ser **de mayor tamaño** que lo normal (macrocitos, como en las deficiencias de folato y de vitamina B_{12}), o de **tamaño normal** (normocitos, como en la pérdida de sangre o la insuficiencia de la médula ósea, aguda) o **de menor tamaño** que lo normal (microcitos, como en la anemia por deficiencia de hierro). También pueden **teñirse** con mayor intensidad que lo habitual (hipercrómicos), normalmente (normocrómicos) o ser más pálidos que lo habitual (hipocrómicos). Estas diferencias de la intensidad de la tinción reflejan de manera cualitativa contenido más alto, normal o más bajo de hemoglobina.

Los **eritrocitos** y las **plaquetas** comparten una vía de diferenciación hasta la etapa de progenitores megacariocíticos eritroides (figura 52-1). Las células de **origen linfoide** se ramifican en la etapa de progenitores multipotentes, y **otros leucocitos** en la etapa de progenitores mieloides comunes. Cada vía está **regulada** por diversos factores (p. ej., factor de célula madre, trombopoyetina, diversas interleucinas, eritropoyetina, etc.), y **factores de transcripción** específicos clave (no indicados en la figura) también participan en las etapas indicadas.

El **factor de célula madre** es una citocina que desempeña una función importante en la proliferación de células madre hematopoyéticas y parte de su progenie. La **trombopoyetina** es una glucoproteína importante en la regulación de la producción de plaquetas por la médula ósea. Las **interleucinas** son citocinas producidas por los leucocitos; regulan diversos aspectos de la hematopoyesis y del sistema inmunitario.

EL ERITROCITO ES SENCILLO EN CUANTO A ESTRUCTURA Y FUNCIÓN

Las **principales funciones del eritrocito** son relativamente simples; consisten en suministrar oxígeno a los tejidos y en ayudar en la eliminación de dióxido de carbono y protones formados por el metabolismo hístico. De este modo, tiene una estructura mucho más simple que casi todas las células del ser humano; en esencia está compuesto por una membrana que rodea a una solución de hemoglobina (esta proteína forma alrededor de 95% de la proteína intracelular del eritrocito). No hay organelos intracelulares, como mitocondrias, lisosomas o aparato de Golgi. Los eritrocitos del ser humano, al igual que casi todos los eritro-

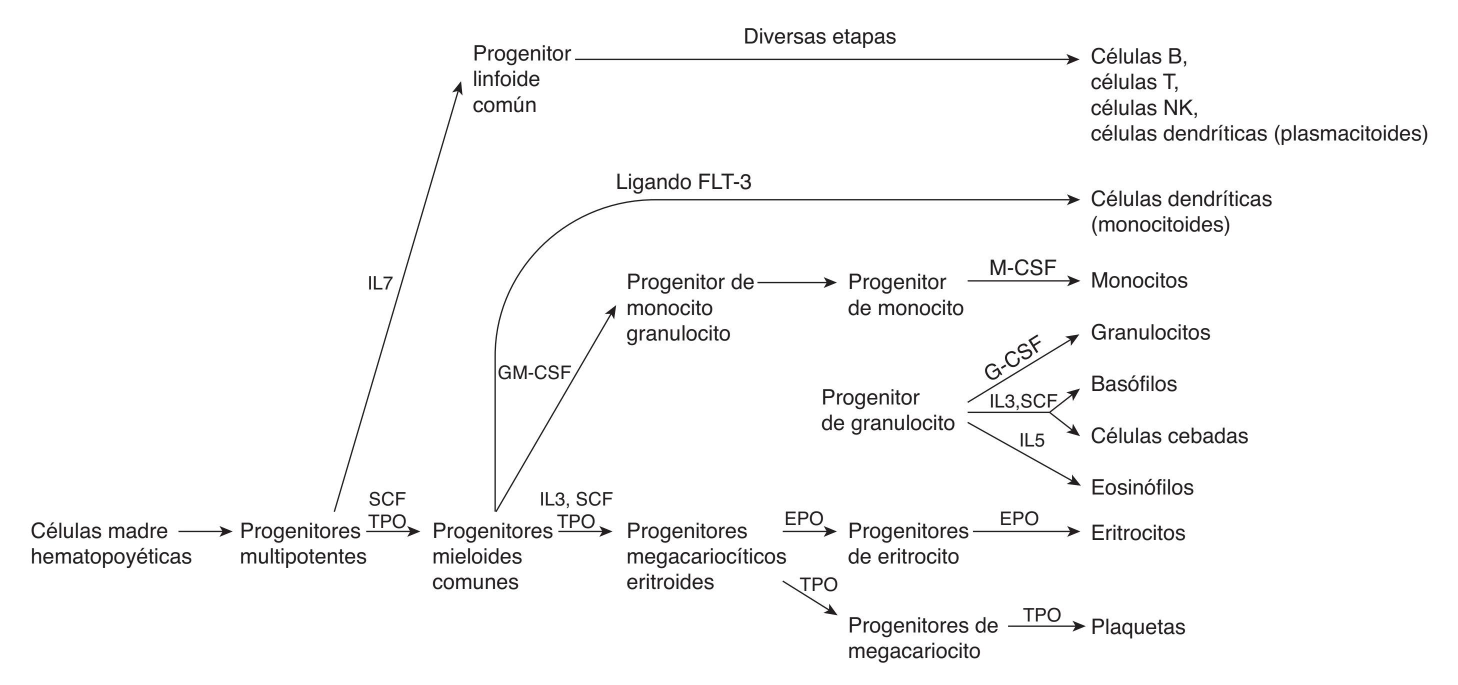


FIGURA 52–1 Esquema simplificado de la diferenciación de eritrocitos y otras células sanguíneas a partir de la célula madre hematopoyética. Se muestran los sitios de acción de interleucinas (IL-7, IL-3 e IL-5), factor de célula madre (SCF), trombopoyetina (TPO), ligando FLT-3 (un factor de crecimiento), factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), eritropoyetina (EPO), factor estimulante de colonias de monocitos (M-CSF) y factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF). No se muestran los sitios de acción de importantes factores de transcripción. Diversos pasos en el desarrollo de células linfoides (parte superior de la figura) se han omitido y abreviado a un paso. (Modificada, con autorización, de Scadden DT, Longo DL en Fauci AS *et al*. [editores], *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th ed, Chapter 68, McGraw-Hill, 2008.)

citos de animales, son no nucleados. Sin embargo, el eritrocito no es inerte desde el punto de vista metabólico. Se sintetiza **ATP** a partir de **glucólisis**, y es importante en procesos que ayudan al eritrocito a mantener su forma bicóncava, y en la regulación del **transporte de iones** (p. ej., mediante la Na^+-K^+-ATPasa y la proteína de intercambio de anión [véase más adelante]) y de **agua** hacia adentro y afuera de la célula. La forma bicóncava aumenta la proporción entre superficie y volumen del eritrocito, lo que facilita el intercambio de gases. El eritrocito contiene componentes de citoesqueleto (véase más adelante) que desempeñan una importante función en la determinación de su forma.

Alrededor de dos millones de eritrocitos entran en la circulación cada segundo

El **lapso de vida** del eritrocito normal es de 120 días; esto significa que poco menos de 1% de la población de eritrocitos (~200 mil millones de células, o ~2 millones por segundo) será remplazado cada día. Los nuevos eritrocitos que aparecen en la circulación todavía contienen ribosomas y elementos del retículo endoplásmico. El RNA de los ribosomas puede detectarse mediante coloraciones idóneas (como azul de cresilo), y las células que lo contienen se denominan reticulocitos; normalmente ascienden a alrededor de 1% del recuento eritrocítico total. El lapso de vida del eritrocito puede estar notoriamente acortado en diversas **anemias hemolíticas**. En estas enfermedades se observa gran incremento del número de reticulocitos, puesto que la médula ósea intenta compensar la desintegración rápida de eritrocitos al aumentar la cantidad de eritrocitos jóvenes nuevos en la circulación.

La eritropoyetina regula la producción de eritrocitos

La **eritropoyetina** (**EPO**) del ser humano es una glucoproteína de 166 aminoácidos (masa molecular de alrededor de 34 kDa). Su cantidad en el plasma puede medirse mediante radioinmunovaloración. Es el principal regulador de la eritropoyesis en seres humanos (figura 52-1). Como se muestra en la figura, las etapas más tempranas en el desarrollo de eritrocitos involucran factor de células madre, trombopoyetina e interleucina-3. La EPO se sintetiza principalmente en los riñones, y se libera en respuesta a hipoxia hacia el torrente sanguíneo, en el cual viaja hasta la médula ósea. Ahí interactúa con progenitores de eritrocitos mediante un **receptor específico**. El receptor es una proteína transmembrana que consta de dos subunidades y varios dominios. No es una tirosina cinasa, pero estimula las actividades de miembros específicos de esta clase de enzimas involucradas en transducción de señal torrente abajo.

La disponibilidad de un **cDNA para EPO** ha hecho posible producir cantidades considerables de esta hormona para análisis y para propósitos terapéuticos; previamente el aislamiento de eritropoyetina a partir de la orina del ser humano proporcionaba cantidades muy pequeñas de la proteína. El principal uso de la **EPO recombinante** ha sido en el tratamiento de un pequeño número de **estados anémicos**, como el que se debe a insuficiencia renal. Se han hecho intentos por prolongar la vida media de la EPO (lo que prolonga su actividad) en la circulación al alterar la naturaleza de sus cadenas de azúcar (cap. 47).

MUCHOS FACTORES DE CRECIMIENTO REGULAN LA PRODUCCIÓN DE LEUCOCITOS

Durante los últimos años se ha identificado gran número de **factores de crecimiento hematopoyéticos** además de la eritropoyetina. Esta área de estudio contribuye al conocimiento acerca de la diferenciación de las células sanguíneas, proporciona factores que pueden ser útiles en el tratamiento, y tiene también inferencias para entender el crecimiento anormal de las células sanguíneas (p. ej., las leucemias). Al igual que la eritropoyetina, casi todos los factores de crecimiento aislados han sido glucoproteínas, son muy activos *in vivo,* e *in vitro* interactúan con sus células blanco por medio de receptores de superficie celular específicos, y finalmente (por medio de señales intracelulares) afectan la expresión de gen, lo que promueve la diferenciación. Muchos se han clonado, lo que permite su producción en cantidades relativamente grandes. Dos de interés particular son los **factores estimulantes de colonias de granulocitos** y **de granulocitos-macrófagos** (G-CSF y GM-CSF, respectivamente). El G-CSF es relativamente específico, al inducir principalmente granulocitos, mientras que el GM-CSF induce una variedad más amplia de leucocitos (figura 52-1). La producción de neutrófilos gravemente deprimida se denomina **neutropenia**. Es en particular probable que ocurra en pacientes tratados con ciertos regímenes quimioterápicos, y después de trasplante de médula ósea. Estos pacientes están propensos a infecciones abrumadoras. Se ha administrado G-CSF a esos pacientes a fin de reforzar la producción de neutrófilos.

EL ERITROCITO TIENE UN METABOLISMO SINGULAR Y RELATIVAMENTE SIMPLE

En el **cuadro 52-3** se resumen diversos aspectos del **metabolismo del eritrocito**, muchos de los cuales se comentan en otros capítulos de este libro.

El eritrocito tiene un transportador de glucosa en su membrana

El índice de entrada de glucosa hacia los eritrocitos es mucho mayor que el que se calcularía para la difusión simple. Más bien, es un ejemplo de **difusión facilitada** (cap. 40). La proteína específica involucrada en este proceso se llama **transportador de glucosa** (GLUT1) o glucosa permeasa; en el **cuadro 52-4** se resumen algunas de sus propiedades. El proceso de entrada de glucosa hacia los eritrocitos tiene gran importancia porque es el principal aporte de combustible para estas células. Se han aislado alrededor de 12 transportadores de glucosa diferentes, pero relacionados, a partir de diversos tejidos del ser humano; al contrario del transportador eritrocítico, algunos de éstos son dependientes de insulina (p. ej., en músculo y tejido adiposo). Hay considerable interés por estos últimos tipos de transportador porque los defectos en su reclutamiento a partir de sitios intracelulares hacia la superficie de células de músculo esquelético pueden ayudar a explicar la **resistencia a la insulina** desplegada por pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

CUADRO 52–3 Resumen de los aspectos importantes del metabolismo del eritrocito

- El eritrocito depende mucho de la glucosa como su fuente de energía; su membrana contiene transportadores de glucosa de alta afinidad.
- La glucólisis, que produce lactato, es el sitio de producción de ATP.
- Dado que no hay mitocondrias en los eritrocitos, no hay producción de ATP mediante fosforilación oxidativa.
- El eritrocito tiene diversos transportadores que mantienen el equilibrio iónico y de agua.
- La producción de 2,3-bisfosfoglicerato, mediante reacciones estrechamente asociadas con glucólisis, tiene importancia en la regulación de la capacidad de la Hb para transportar oxígeno.
- La vía de la pentosa fosfato es operativa en el eritrocito (metaboliza alrededor de 5 a 10% del flujo total de glucosa) y produce NADPH; la anemia hemolítica debida a deficiencia de la actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa es frecuente.
- El glutatión reducido (GSH) es importante en el metabolismo del eritrocito, en parte para contrarrestar la acción de peróxidos en potencia tóxicos; el eritrocito puede sintetizar GSH, y requiere NADPH para regresar el glutatión oxidado (G-S-S-G) al estado reducido.
- El hierro de la Hb debe mantenerse en el estado ferroso; el hierro férrico se reduce al estado ferroso mediante la acción de un sistema de metahemoglobina reductasa dependiente de NADH que comprende citocromo b_5 reductasa y citocromo b_5.
- En el eritrocito no se sintetizan glucógeno, ácidos grasos, proteína ni ácidos nucleicos; sin embargo, algunos lípidos (p. ej., colesterol) en la membrana del eritrocito pueden intercambiarse con lípidos plasmáticos correspondientes.
- El eritrocito contiene ciertas enzimas del metabolismo de nucleótidos (p. ej., adenosina desaminasa, pirimidina nucleotidasa y adenilil cinasa); las deficiencias de estas enzimas participan en algunos casos de anemia hemolítica.
- Cuando los eritrocitos llegan al final de su lapso de vida, la globina se degrada hacia aminoácidos (que se reutilizan en el cuerpo), el hierro se libera del hem y se reutiliza también, y el componente tetrapirrol del hem se convierte en bilirrubina, que se excreta principalmente hacia el intestino por medio de la bilis.

Los reticulocitos son activos en la síntesis de proteína

El eritrocito maduro no puede sintetizar proteína. Los **reticulocitos** son activos en la síntesis de proteína. Cuando los reticulocitos se integran en la circulación, pierden sus organelos intracelulares (ribosomas, mitocondrias, etc.) en el transcurso de alrededor de 24 h, se convierten en eritrocitos jóvenes y de manera concomitante pierden su capacidad para sintetizar proteína. Los **extractos de reticulocitos de conejo** (obtenidos al inyectar a conejos una sustancia química —fenilhidrazina— que causa una anemia hemolítica grave, de modo que los eritrocitos quedan remplazados casi por completo por reticulocitos) se usan ampliamente como un sistema *in vitro* para la síntesis de proteínas. Los mRNA endógenos presentes en estos reticulocitos se destruyen mediante el uso de una nucleasa, cuya actividad puede inhibirse al añadir Ca^{2+}. A continuación se programa el

CUADRO 52–4 Algunas propiedades del transportador de glucosa de la membrana del eritrocito (GLUT1)

• Constituye alrededor de 2% de la proteína de la membrana del eritrocito.
• Muestra especificidad por la glucosa y D-hexosas relacionadas (las L-hexosas no se transportan).
• El transportador funciona a aproximadamente 75% de su $V_{máx}$ a la concentración fisiológica de glucosa en la sangre, es saturable, y puede ser inhibido por ciertos análogos de la glucosa.
• Hasta la fecha se han detectado alrededor de 12 transportadores de glucosa similares en tejidos de mamífero, uno de los cuales es el transportador eritrocítico.
• No depende de la insulina, al contrario del acarreador correspondiente en los tejidos muscular y adiposo.
• Se ha determinado su secuencia de aminoácidos completa (492 aminoácidos).
• Transporta glucosa cuando se inserta en lisosomas artificiales.
• Se estima que contiene 12 segmentos helicoidales transmembrana.
• Funciona al generar un poro con compuerta en la membrana para permitir el paso de glucosa; el poro depende desde el punto de vista conformacional de la presencia de glucosa, y puede oscilar con rapidez (alrededor de 900 veces/s).

sistema al añadir mRNA purificados o extractos de mRNA de célula entera, y se sintetizan proteínas radiactivas en presencia de L-metionina ^{35}S-marcada u otros aminoácidos radiomarcados. Las proteínas radiactivas sintetizadas se separan por medio de electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE), y se detectan mediante radioautografía.

En lo que se refiere a la **síntesis de proteína**, es interesante notar que ciertos trastornos debidos a anormalidades genéticas causan deterioro de la estructura de ribosomas y de la función de los mismos, y se han denominado **ribosomopatías**. Éstos incluyen algunos casos de **anemia de Diamond-Blackfan**, en la cual mutaciones en un gen procesador de RNA ribosómico (RPS19) dan lugar a hipoplasia de eritrocitos. El **síndrome 5q** se presenta con un cuadro clínico similar y se debe a una insuficiencia de la proteína ribosómica RPS 14.

La superóxido dismutasa, la catalasa y el glutatión protegen a los eritrocitos contra estrés y daño oxidativos

Varios **oxidantes** potentes se producen en el transcurso del metabolismo, tanto en células sanguíneas como en casi todas las otras células del cuerpo. Éstos incluyen superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radicales peroxilo ($ROO^{\cdot}$), y radicales hidroxilo ($OH^{\cdot}$), y se denominan **especies de oxígeno reactivas** (**ROS**). Los **radicales libres** son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón no pareado (caps. 15 y 45). El $OH^{\cdot}$ es una molécula en particular reactiva, y puede reaccionar con proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y otras moléculas para alterar su estructura y producir daño de tejido. Las reacciones que se listan en el **cuadro 52-5** tienen importancia en la formación de estos oxidantes y en su eliminación; ahora se considerará cada una de estas reacciones a su vez.

El **superóxido** se forma (reacción 1) en los eritrocitos mediante la autooxidación de hemoglobina hacia metahemoglobina (se ha calculado que cada día se autooxida aproximadamente 3% de la hemoglobina en los eritrocitos del ser humano); en otros tejidos, se forma mediante la acción de enzimas como la citocromo P450 reductasa y la xantina oxidasa. Cuando se estimulan por contacto con bacterias, los **neutrófilos** muestran una **explosión respiratoria** (véase más adelante), y producen superóxido en una reacción catalizada por la NADPH oxidasa (reacción 2). El superóxido se dismuta de manera espontánea para formar H_2O_2 y O_2; sin embargo, la acción de la enzima **superóxido dismutasa** acelera tremendamente el índice de esta misma reacción (reacción 3). El **peróxido de hidrógeno** está sujeto a varios destinos. La enzima **catalasa**, presente en muchos tipos de células, lo convierte en H_2O y O_2 (reacción 4). Los neutrófilos poseen una enzima singular, la **mieloperoxidasa**, que usa H_2O_2 y halidos para producir ácidos hipohalosos (reacción 5); más adelante se profundiza en este tema. La enzima que contiene selenio, **glutatión peroxidasa** (cap. 21), también actuará sobre el glutatión reducido (GSH) y H_2O_2 para producir glutatión oxidado (GSSG) y H_2O (reacción 6); esta enzima también puede usar otros peróxidos como sustratos. El $OH^{\cdot}$ y el OH^- pueden formarse a partir de H_2O_2 en una reacción no enzimática catalizada por Fe^{2+} (la **reacción de Fenton**, reacción 7). El $O_2^{\cdot-}$ y el H_2O_2

CUADRO 52–5 Reacciones de importancia en relación con el estrés oxidativo en eritrocitos y diversos tejidos

1. Producción de superóxido (subproducto de varias reacciones)	$O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\cdot-}$
2. NADPH oxidasa	$2\ O_2 + NADPH \rightarrow 2\ O_2^{\cdot-} + NADP + H^+$
3. Superóxido dismutasa	$O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2\ H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$
4. Catalasa	$H_2O_2 \rightarrow 2\ H_2O + O_2$
5. Mieloperoxidasa	$H_2O_2 + X^- + H^+ \rightarrow HOX + H_2O$ ($X^- = Cl^-, Br^-, SCN^-$)
6. Glutatión peroxidasa (dependiente de Se)	$2\ GSH + R\text{-}O\text{-}OH \rightarrow GSSG + H_2O + ROH$
7. Reacción de Fenton	$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{\cdot} + OH^-$
8. Reacción de Haber-Weiss catalizada por hierro	$O_2^{\cdot-} + H_2O_2 \rightarrow O_2 + OH^{\cdot} + OH^-$
9. Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD)	G6P + NADP → 6 Fosfogluconato + NADPH + H^+
10. Glutatión reductasa	G-S-S-G + NADPH + H^+ → 2 GSH + NADP

son los sustratos en la **reacción de Haber-Weiss** catalizada por hierro (reacción 8), que también produce OH• y OH^-. El superóxido puede liberar iones de hierro a partir de la ferritina. De este modo, la producción de OH• puede ser uno de los mecanismos involucrados en la lesión hística debida a sobrecarga de hierro en la hemocromatosis (caso núm. 10, cap. 57).

Los compuestos químicos y las reacciones capaces de generar especies de oxígeno tóxicas potenciales pueden denominarse **prooxidantes**. Por otro lado, los compuestos y las reacciones que eliminan estas especies, al recolectarlas, suprimir su acción u oponerse a sus acciones, son **antioxidantes**, e incluyen compuestos como NADPH, GSH, ácido ascórbico y vitamina E. En una célula normal hay un equilibrio apropiado entre prooxidante y antioxidante. Sin embargo, este equilibrio puede desviarse hacia los prooxidantes cuando la producción de especies de oxígeno aumenta mucho (p. ej., después de la ingestión de ciertas sustancias químicas o fármacos) o cuando las concentraciones de antioxidantes están disminuidas (p. ej., por desactivación de enzimas involucradas en la eliminación de especies de oxígeno y por condiciones que causan cifras bajas de los antioxidantes mencionados). Este estado se llama **"estrés oxidativo"** (cap. 45) y puede suscitar serio daño celular si el estrés es masivo o prolongado.

Ahora se cree que las especies de oxígeno reactivas (ROS) desempeñan una función importante en muchos tipos de **lesión celular** (p. ej., originada por la administración de diversas sustancias químicas tóxicas o por isquemia), algunos de los cuales pueden originar muerte celular. La protección contra lesión celular en una situación en estudio al administrar una enzima como superóxido dismutasa o catalasa, proporciona evidencia indirecta que apoya una participación de estas especies en la generación de lesión celular.

La deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa es frecuente en ciertas áreas, y es una causa importante de anemia hemolítica

El **NADPH**, producido en la reacción catalizada por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa ligada a X (cuadro 52-5, reacción 9) en la **vía de la pentosa fosfato** (cap. 21), desempeña una función clave en el suministro de equivalentes reductores en el eritrocito y en otras células como el hepatocito. Dado que la vía de la pentosa fosfato es casi su único medio de producir NADPH, el eritrocito es muy sensible al daño oxidativo si la función de esta vía está alterada (p. ej., por deficiencia de enzima). Una función del NADPH es reducir GSSG hacia GSH, reacción catalizada por la glutatión reductasa (reacción 10).

La deficiencia de la actividad de la **glucosa-6-fosfato deshidrogenasa**, debido a mutación, es en extremo frecuente en algunas regiones del mundo (p. ej., África tropical, el Mediterráneo, ciertas partes de Asia, y Norteamérica entre sujetos de raza negra). Es la más frecuente de las **enzimopatías** (enfermedades causadas por anormalidades de enzimas), y se han distinguido alrededor de 140 variantes genéticas de la enzima; se estima que al menos 400 millones de personas tienen un gen variante. Se cree que una forma anormal de esta enzima confiere resistencia contra el paludismo. El trastorno que se origina por deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa es la **anemia hemolítica**. La enfermedad causada por una forma anormal de una enzima se denomina enzimopatía. El consumo de **habas** (*Vicia faba*) por individuos que tienen deficiencia de la actividad de la enzima puede precipitar un ataque agudo de anemia hemolítica porque contienen oxidantes potenciales. Además, varios fármacos (p. ej., el antipalúdico **primaquina** [la enfermedad causada por ingestión de primaquina se llama **anemia hemolítica sensible a primaquina**] y **sulfonamidas**) y sustancias químicas (p. ej., naftaleno) precipitan un ataque, porque su ingestión lleva a generación de H_2O_2 u $O_2^{-\bullet}$. En circunstancias normales, el H_2O_2 se elimina mediante **catalasa** y **glutatión peroxidasa** (cuadro 52-5, reacciones 4 y 6); esta última origina aumento de la producción de GSSG. El GSH se regenera a partir de GSSG mediante la acción de la enzima **glutatión reductasa**, que depende de la disponibilidad de NADPH (reacción 10). Los eritrocitos de individuos que tienen deficiencia de la actividad de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa no pueden generar suficiente NADPH para regenerar GSH a partir de GSSG, lo que a su vez altera su capacidad para eliminar H_2O_2 y radicales de oxígeno. Estos compuestos pueden causar oxidación de grupos SH cruciales en proteínas, y posiblemente peroxidación de lípidos en la membrana del eritrocito, lo que causa lisis de esta última. Algunos de los grupos SH de la hemoglobina se oxidan, y la proteína se precipita dentro del eritrocito, lo que forma **cuerpos de Heinz**, que se tiñen de púrpura con violeta de cresilo. La presencia de cuerpos de Heinz indica que los eritrocitos han quedado sujetos a estrés oxidativo. En la **figura 52-2** se resume la posible cadena de eventos en la anemia hemolítica debida a deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.

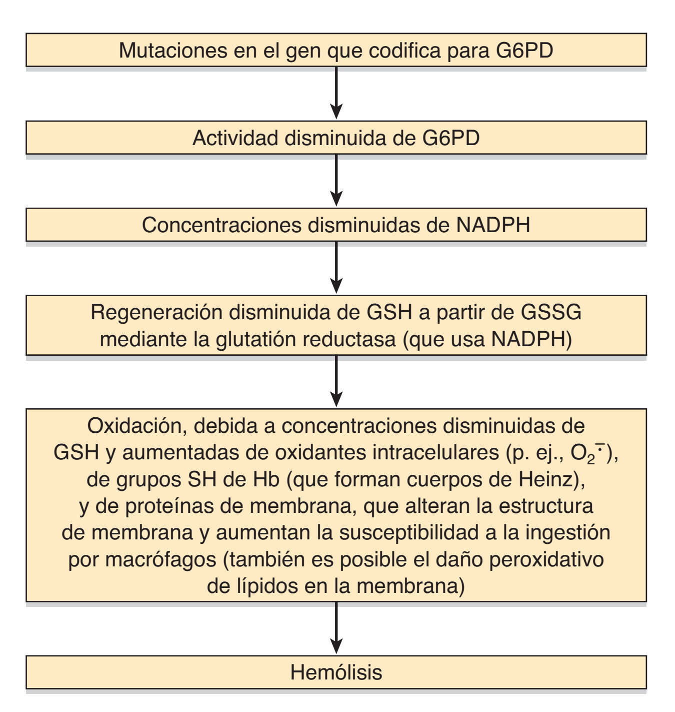


FIGURA 52–2 **Resumen de probables eventos que causan anemia hemolítica debido a deficiencia de la actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) (OMIM 305900).**

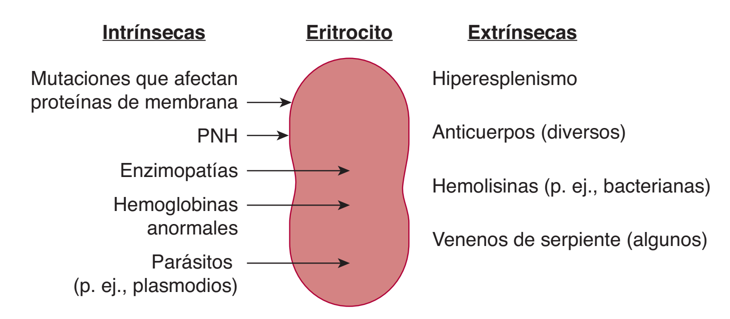


FIGURA 52–3 Diagrama esquemático de algunas causas de anemias hemolíticas. Las causas extrínsecas son causas fuera del eritrocito; comprenden hiperesplenismo, diversos anticuerpos, ciertas hemolisinas bacterianas, y algunos venenos de serpiente. Las causas intrínsecas a los eritrocitos son mutaciones que afectan las estructuras de proteínas de membrana (p. ej., en la esferocitosis hereditaria y la eliptocitosis hereditaria), PNH (hemoglobinuria paroxística nocturna; cap. 47), enzimopatías, hemoglobinas anormales y ciertos parásitos (p. ej., plasmodios que causan paludismo).

Las anemias hemolíticas se producen por anormalidades fuera, dentro o en el interior de la membrana del eritrocito

En la **figura 52-3** se resumen diversas causas de anemias hemolíticas. Las causas **fuera de la membrana** (esto es, extrínsecas) comprenden **hiperesplenismo**, un estado en el cual el bazo está agrandado por diversas causas, y los eritrocitos quedan secuestrados en él. **Diversos anticuerpos** (p. ej., reacciones de transfusión y anticuerpos anti-Rh, la presencia en el plasma de anticuerpos calientes y fríos que lisan eritrocitos) también caen dentro de esta clase, al igual que **hemolisinas** liberadas por diversos agentes infecciosos, como ciertas bacterias (p. ej., ciertas cepas de *E. coli* y clostridios). Algunas serpientes liberan **venenos** cuya acción lisa la membrana eritrocítica (p. ej., por medio de la acción de fosfolipasas o proteinasas).

Las causas **dentro de la membrana** (intrínsecas) comprenden anormalidades de proteínas. Las enfermedades más importantes son **esferocitosis hereditaria** y **eliptocitosis hereditaria**, principalmente causadas por anormalidades de la cantidad o estructura de la espectrina (véase más adelante). La **hemoglobinuria paroxística nocturna** se comenta en el capítulo 47.

Las causas en el **interior del eritrocito** (también intrínsecas) incluyen **hemoglobinopatías** y **enzimopatías**. La anemia de células falciformes y las talasemias son las hemoglobinopatías más prevalecientes. Las anormalidades de enzimas en la vía de la pentosa fosfato y en la glucólisis son las enzimopatías más frecuentes, en particular la primera. La deficiencia de **glucosa-6-fosfato deshidrogenasa** es prevaleciente en ciertas partes del mundo, y es una causa frecuente de anemia hemolítica (véase antes). La deficiencia de **piruvato cinasa** es rara, pero es la segunda deficiencia de enzima más frecuente que da por resultado anemia hemolítica; el mecanismo parece deberse a alteración de la glucólisis, lo que origina formación disminuida de ATP, y afecta diversos aspectos de la integridad de membrana. Las infecciones **parasitarias** (p. ej., los plasmodios que causan paludismo) también son causas importantes de anemias hemolíticas en ciertas áreas geográficas.

CUADRO 52–6 Investigaciones de laboratorio que ayudan en el diagnóstico de anemia hemolítica

Pruebas y datos generales
Bilirrubina no conjugada (indirecta) aumentada
Supervivencia de eritrocitos acortada según se mide mediante inyección de eritrocitos autólogos marcados con ^{51}Cr
Reticulocitosis
Concentración plasmática baja de haptoglobina
Pruebas y datos específicos
Electroforesis de Hb (p. ej., HbS)
Enzimas de eritrocitos (p. ej., deficiencia de G6PD o de piruvato cinasa)
Fragilidad osmótica (p. ej., esferocitosis hereditaria)
Prueba de Coombs[1]
Crioaglutininas

[1] La prueba de Coombs directa detecta la presencia de anticuerpos sobre eritrocitos, mientras que la prueba indirecta detecta la presencia de anticuerpos circulantes contra antígenos presentes en los eritrocitos.

Las investigaciones de laboratorio que ayudan en el diagnóstico de la anemia hemolítica se listan en el **cuadro 52-6**.

La metahemoglobina es inútil en el transporte de oxígeno

El hierro ferroso de la hemoglobina es susceptible a oxidación por superóxido y otros agentes oxidantes, lo que forma **metahemoglobina**, que no puede transportar oxígeno. Sólo una cantidad muy pequeña de metahemoglobina está presente en la sangre normal, puesto que el eritrocito posee un sistema eficaz (el sistema de la NADH-citocromo b_5 metahemoglobina reductasa) para reducir el hem Fe^{3+} de regreso al estado de Fe^{2+}. Este sistema consta de **NADH** (generado mediante glucólisis), una flavoproteína llamada **citocromo b_5 reductasa** (también conocida como metahemoglobina reductasa), y **citocromo b_5**. El Fe^{3+} de la metahemoglobina se reduce de regreso al estado de Fe^{2+} mediante la acción del citocromo b_5 reducido:

$$\text{Hb}-\text{Fe}^{3+}+\text{Cit}\,b_{5\text{red}}\rightarrow\text{Hb}-\text{Fe}^{2+}+\text{Cit}\,b_{5\text{ox}}$$

El citocromo b_5 reducido después se regenera mediante la acción de la citocromo b_5 reductasa:

$$\text{Cit}\,b_{5\text{ox}}+\text{NADH}\rightarrow\text{Cit}\,b_{5\text{red}}+\text{NAD}$$

La metahemoglobinemia es hereditaria o adquirida

La **metahemoglobinemia** puede clasificarse como **hereditaria** o **adquirida** por ingestión de ciertos fármacos y sustancias químicas. Ni uno ni otro tipo es frecuente, pero los médicos deben estar informados respecto a ellos. La forma hereditaria por lo general se debe a actividad deficiente de la **citocromo b_5** reductasa, pero las mutaciones también pueden afectar la actividad

del citocromo b_5. Ciertas **hemoglobinas anormales** (p. ej., HbM) también son causas raras de metahemoglobinemia. En la HbM, la mutación cambia el residuo aminoácido al cual está fijo el hem, lo que altera su afinidad por el oxígeno y favorece su oxidación. La ingestión de **ciertos fármacos** (p. ej., sulfonamidas) o **sustancias químicas** (p. ej., anilina) puede causar metahemoglobinemia adquirida. La cianosis (coloración azulada de la piel y las mucosas debido a cantidades aumentadas de hemoglobina desoxigenada en la sangre arterial, o en este caso debido a cantidades aumentadas de metahemoglobina) por lo general es el signo de presentación en ambos tipos, y es evidente cuando más de 10% de la hemoglobina se encuentra en la forma "met". El diagnóstico se efectúa mediante análisis espectroscópico de la sangre, que revela el espectro de absorción característico de la metahemoglobina. Además, una muestra de sangre que contiene metahemoglobina no se puede reoxigenar por completo al exponerla a oxígeno, mientras que la sangre desoxigenada normal puede hacerlo. La electroforesis puede usarse para confirmar la presencia de una hemoglobina anormal. La ingestión de **azul de metileno** o **ácido ascórbico** (ambos agentes reductores) se usa para tratar metahemoglobinemia leve consecutiva a deficiencia de enzima. La metahemoglobinemia masiva aguda (por ingestión de sustancias químicas) debe tratarse mediante inyección de azul de metileno por vía intravenosa.

SE SABE MÁS ACERCA DE LA MEMBRANA DEL ERITROCITO QUE DE LA MEMBRANA SUPERFICIAL DE CUALQUIER OTRA CÉLULA DEL SER HUMANO

Se han usado diversos métodos bioquímicos para estudiar la membrana del eritrocito; entre ellos están el análisis de proteínas de membrana mediante SDS-PAGE, el uso de enzimas específicas (proteinasas, glucosidasas y otras) para determinar la ubicación de proteínas y glucoproteínas en la membrana, y diversas técnicas para estudiar tanto la composición de lípido como la disposición de lípidos individuales. También se han usado ampliamente técnicas morfológicas (p. ej., microscopia electrónica, microscopia electrónica de congelación-fractura) y de otros tipos (p. ej., uso de anticuerpos contra componentes específicos). Cuando los eritrocitos se lisan en condiciones específicas, su membrana se volverá a sellar en su orientación original para formar **fantasmas** (fantasmas al derecho). Al alterar las condiciones, puede hacerse que los fantasmas se vuelvan a sellar con su cara citosólica expuesta en el exterior (fantasmas al revés). Ambos tipos de fantasmas han sido útiles en el análisis de la disposición de proteínas y lípidos específicos en la membrana. En años recientes, han quedado disponibles cDNA para muchas proteínas de esta membrana, lo que permite la deducción de sus secuencias y dominios amino. En conjunto, se sabe más en relación a la membrana del eritrocito que de cualquier otra membrana de células del ser humano (**cuadro 52-7**).

CUADRO 52–7 Resumen de la información bioquímica acerca de la membrana del eritrocito del ser humano

- La membrana es una bicapa compuesta de alrededor de 50% de lípido y 50% de proteína.
- Las principales clases de lípido son fosfolípidos y colesterol; los principales fosfolípidos son fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE) y fosfatidilserina (PS) junto con esfingomielina (Sph).
- Los fosfolípidos que contienen colina, PC y Sph, predominan en la hojuela externa, y los que contienen amino (PE y PS), en la hojuela interna.
- Los glucoesfingolípidos (GSL) (GSL neutros, gangliósidos, y especies complejas, entre ellas las sustancias del grupo sanguíneo ABO) constituyen alrededor de 5 a 10% del lípido total.
- El análisis mediante SDS-PAGE muestra que la membrana contiene alrededor de 10 proteínas importantes y más de 100 especies menores.
- Las principales proteínas (que incluyen espectrina, anquirina, la proteína de intercambio de anión, actina, y banda 4.1) se han estudiado de manera intensiva, y se han establecido las principales características de su disposición (p. ej., integral o periférica), estructura y función.
- Muchas de las proteínas son glucoproteínas (p. ej., las glucoforinas) que contienen cadenas de oligosacárido *O*-enlazadas o *N*-enlazadas (o ambas) ubicadas sobre la superficie externa de la membrana.

El análisis mediante SDS-PAGE resuelve las proteínas de la membrana del eritrocito

Cuando las membranas de los eritrocitos se analizan mediante **SDS-PAGE**, se resuelven alrededor de 10 proteínas principales (**figura 52-4**), varias de las cuales se ha mostrado que son **glucoproteínas**. Su migración en la SDS-PAGE se usó para nombrar estas proteínas; la de migración más lenta (y, por ende, la de masa molecular más alta) se designa banda 1 o **espectrina**. Se han aislado todas estas proteínas principales, casi todas se han identificado, y se ha obtenido información considerable acerca de sus funciones (**cuadro 52-8**). También se han establecido muchas de sus secuencias de aminoácidos. Además, se ha determinado cuáles son proteínas de membrana integrales o periféricas, cuáles están situadas sobre la superficie externa, cuáles están en la superficie citosólica, y cuáles abarcan la membrana (**figura 52-5**). Asimismo, pueden detectarse muchos componentes menores en la membrana del eritrocito mediante el uso de métodos de tinción sensibles o electroforesis en gel bidimensional. Uno de éstos es el transportador de glucosa antes descrito.

Las proteínas integrales principales de la membrana del eritrocito son la proteína de intercambio de anión y las glucoforinas

La **proteína de intercambio de anión** (**banda 3**) es una glucoproteína transmembrana, con su extremo carboxilo terminal sobre la superficie externa de la membrana, y su extremo amino terminal sobre la superficie citoplásmica. Es un ejemplo de pro-

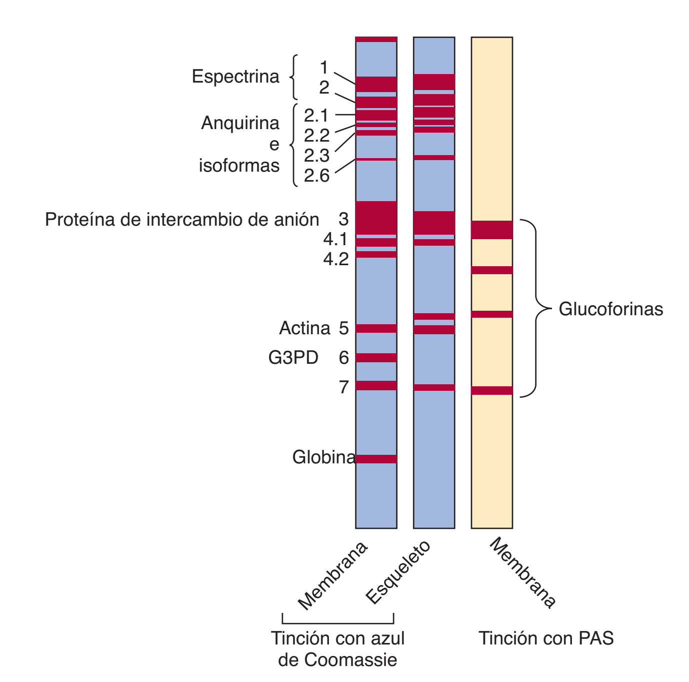


FIGURA 52–4 Representación esquemática de las principales proteínas de la membrana del eritrocito del ser humano separadas mediante SDS-PAGE. En los dos canales izquierdos se muestran las bandas detectadas mediante tinción con azul de Coomassie, y en el canal derecho, las glucoproteínas detectadas mediante tinción con reactivo ácido peryódico de Schiff (PAS). La dirección de la migración electroforética es de arriba abajo. (Reproducida, con autorización, de Beck WS, Tepper RI: Hemolytic anemias III: membrane disorders. En: *Hematology*, 5th ed. Beck WS [editor]. The MIT Press, 1991.)

teína de membrana de **múltiples pasos**, que se extiende a través de la bicapa alrededor de 14 veces. Probablemente existe como un dímero en la membrana, en la cual forma un túnel, que permite el intercambio de cloro por bicarbonato. El dióxido de carbono, que se forma en los tejidos, entra en el eritrocito como bicarbonato, que se intercambia por cloruro en los pulmones, donde se exhala el dióxido de carbono. El extremo amino terminal se une a muchas proteínas, entre ellas hemoglobina, proteínas 4.1 y 4.2, anquirina, y varias enzimas glucolíticas. La banda 3 purificada se ha añadido a vesículas de lípido *in vitro*, y se ha mostrado que desempeña sus funciones de transporte en este sistema reconstituido.

Las **glucoforinas A**, **B** y **C** también son glucoproteínas transmembrana, pero del tipo de **un solo paso**; se extienden a través de la membrana sólo una vez. La A es la principal glucoforina; consta de 131 aminoácidos, y está densamente glucosilada (alrededor de 60% de su masa). Su extremo amino terminal, que contiene 16 cadenas de oligosacárido (15 de las cuales son *O*-glucanos), sobresale desde la superficie del eritrocito. Alrededor de 90% del ácido siálico de la membrana del eritrocito se localiza en esta proteína. Su segmento transmembrana (23 aminoácidos) es α-helicoidal. El extremo carboxilo terminal se extiende hacia el citosol y se une a la proteína 4.1, que a su vez se une a la espectrina. El **polimorfismo** de esta proteína es el fundamento del sistema de grupo sanguíneo MN (véase más adelante). La glucoforina A contiene sitios de unión para virus de la gripe y para *Plasmodium falciparum*, la causa de una forma de paludismo. Es interesante que en individuos que carecen de glucoforina no parece haber afección de la función de los eritrocitos.

CUADRO 52–8 Principales proteínas de la membrana del eritrocito

Número de banda[1]	Proteína	Integral (I) o periférica (P)	Masa molecular aproximada (kDa)
1	Espectrina (α)	P	240
2	Espectrina (β)	P	220
2.1	Anquirina	P	210
2.2	Anquirina	P	195
2.3	Anquirina	P	175
2.6	Anquirina	P	145
3	Proteína de intercambio de anión	I	100
4.1	Sin nombre	P	80
5	Actina	P	43
6	Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa	P	35
7	Tropomiosina	P	29
8	Sin nombre	P	23
	Glucoforinas A, B y C	I	31, 23, y 28

Fuente: Adaptado de Lux DE, Becker PS: Disorders of the red cell membrane skeleton: hereditary spherocytosis and hereditary elliptocytosis. Chapter 95 en: *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, 6th ed. Scriver CR *et al.* (editores). McGraw-Hill, 1989.

[1] El número de banda se refiere a la posición de migración en la SDS-PAGE (figura 52-4). Las glucoforinas se detectan mediante tinción con el reactivo ácido peryódico de Schiff. Varios otros componentes (p. ej., 4.2 y 4.9) no se listan. La espectrina natural es $\alpha_2\beta_2$.

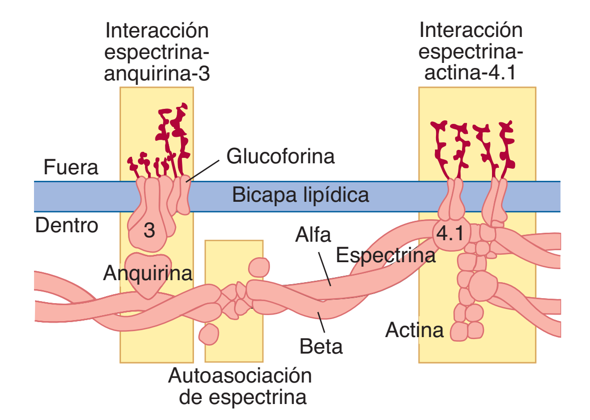


FIGURA 52–5 Representación esquemática de la interacción de proteínas del citoesqueleto entre sí y con ciertas proteínas integrales de la membrana del eritrocito. (Reproducida, con autorización, de Beck WS, Tepper RI: Hemolytic anemias III: membrane disorders. En: *Hematology*, 5th ed. Beck WS [editor]. The MIT Press, 1991.)

La espectrina, anquirina y otras proteínas de membrana periféricas ayudan a determinar la forma y flexibilidad del eritrocito

El eritrocito debe tener la capacidad de pasar a través de algunos sitios estrechos en la microcirculación durante sus muchos recorridos por todo el cuerpo; los sinusoides del bazo tienen especial importancia a este respecto. Para que el eritrocito sea fácilmente **deformable**, y para que la deformación sea reversible, su membrana debe ser tanto fluida como flexible; también debe preservar su forma bicóncava, dado que esto facilita el intercambio de gases. Los **lípidos** de membrana ayudan a determinar la fluidez de membrana. Fijas a la cara interna de la membrana del eritrocito hay muchas **proteínas citoesqueléticas periféricas** (cuadro 52-8) que desempeñan funciones importantes respecto a la preservación de la forma y flexibilidad; a continuación se describirán éstas.

La **espectrina** es la principal proteína del citoesqueleto. Está compuesta de dos polipéptidos: espectrina 1 (cadena α) y espectrina dos (cadena β). Estas cadenas, que miden aproximadamente 100 nm de longitud, muestran alineación antiparalela, están laxamente entremezcladas, y forman un dímero. Ambas cadenas están hechas de segmentos de 106 aminoácidos que parecen plegarse hacia las espirales α-helicoidales de triple cadena unidas por segmentos no helicoidales. Un dímero interactúa con otro, formando un tetrámero de cabeza a cabeza. La forma general confiere **flexibilidad** a la proteína y, a su vez, a la membrana del eritrocito. Pueden definirse al menos cuatro **sitios de unión** en la espectrina: 1) para autoasociación, 2) para anquirina (bandas 2.1, etc.), 3) para actina (banda 5) y 4) para proteína 4.1.

La **anquirina** es una proteína de forma piramidal que se **une a la espectrina**. A su vez, la anquirina se une de manera estrecha a la banda 3, lo que asegura la fijación de la espectrina a la membrana. La **anquirina** es sensible a proteólisis, lo que explica la aparición de las bandas 2.2, 2.3 y 2.6, todas las cuales se derivan de la banda 2.1.

La **actina** (banda 5) existe en los eritrocitos como filamentos de doble hélice, cortos, de actina F. El extremo cola de dímeros de espectrina se une a actina; esta última también se une a la proteína 4.1.

La **proteína 4.1**, una proteína globular, se une de manera estrecha al extremo cola de la espectrina, cerca del sitio de unión a actina de esta última y, así, es parte de un complejo ternario de proteína 4.1-espectrina-actina. La proteína 4.1 también se une a las proteínas integrales, glucoforinas A y C, lo que fija el complejo ternario a la membrana. Además, la proteína 4.1 puede interactuar con ciertos fosfolípidos de membrana, lo que conecta la bicapa lipídica al citoesqueleto.

Algunas otras proteínas (4.9, aducina y tropomiosina) también participan en el **montaje del citoesqueleto**.

Las anormalidades de la cantidad o la estructura de la espectrina causan esferocitosis y eliptocitosis hereditarias

La **esferocitosis hereditaria** es una enfermedad genética, de transmisión autosómica dominante, que afecta a alrededor de 1:5 000 habitantes de Norteamérica. Se caracteriza por la presencia de

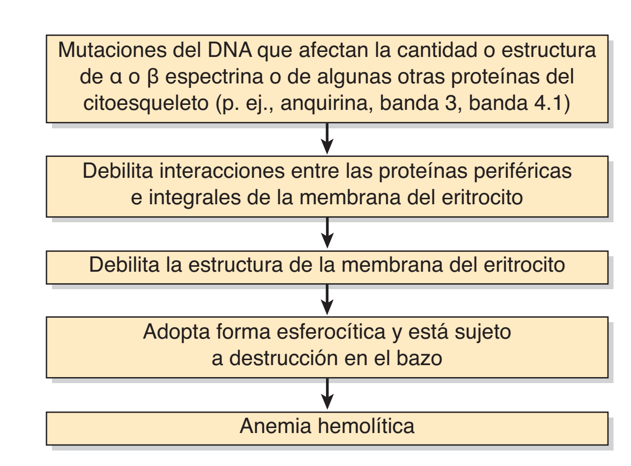


FIGURA 52–6 Resumen de la causa de la esferocitosis hereditaria (OMIM 182900). Alrededor de 50% de los casos se debe a anormalidades de la anquirina, y 25%, a anormalidades de la espectrina.

esferocitos (eritrocitos esféricos, con proporción baja entre superficie y volumen) en la sangre periférica, por una **anemia hemolítica** (figura 52-3), y por esplenomegalia. Los esferocitos no son tan deformables como los eritrocitos normales, y están sujetos a destrucción en el bazo, lo que acorta mucho su vida en la circulación. La esferocitosis hereditaria es **curable mediante esplenectomía** porque los esferocitos pueden persistir en la circulación en ausencia del bazo.

Los esferocitos son mucho más susceptibles a lisis osmótica que los eritrocitos normales. Esto se evalúa en la **prueba de fragilidad osmótica**, en la cual los eritrocitos quedan expuestos *in vitro* a concentraciones decrecientes de NaCl. La concentración fisiológica de NaCl es de 0.85 g/dl. Cuando quedan expuestos a una concentración de NaCl de 0.5 g/dl, muy pocos eritrocitos normales muestran hemólisis, mientras que alrededor de 50% de los esferocitos mostrarían lisis en estas condiciones. La explicación es que el esferocito, al ser casi circular, tiene poco volumen extra potencial para adaptar agua adicional y, así, se lisa con facilidad cuando queda expuesto a una presión osmótica un poco más baja que lo normal.

Una causa de la esferocitosis hereditaria (**figura 52-6**) es una deficiencia de la cantidad de **espectrina** o anormalidades de su estructura, de modo que ya no se une de manera estrecha a las otras proteínas con las cuales normalmente interactúa. Esto debilita la membrana y lleva a la forma esferocítica. Las anormalidades de la **anquirina** y de las **bandas 3**, **4.1** y **4.2** están comprendidas en otros casos.

La **eliptocitosis hereditaria** es un trastorno genético similar a la esferocitosis hereditaria salvo porque los eritrocitos afectados adoptan una forma elíptica, discoide, reconocible mediante microscopia. También se debe a anormalidades de la **espectrina**; algunos casos reflejan anormalidades de la banda **4.1** o de la **glucoforina C**.

SE HAN ESTABLECIDO LAS BASES BIOQUÍMICAS DEL SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO ABO

Se han reconocido alrededor de 30 **sistemas de grupo sanguíneo** en seres humanos, los mejor conocidos de los cuales son los

sistemas **ABO**, **Rh** (**Rhesus**) y **MN**. El término **"grupo sanguíneo"** se aplica a un sistema definido de antígenos eritrocíticos (sustancias de grupo sanguíneo) controlados por un *locus* genético que tiene un número variable de alelos (p. ej., A, B y O en el sistema ABO). El término **"tipo sanguíneo"** se refiere al fenotipo antigénico, por lo general reconocido mediante el uso de anticuerpos apropiados. Para propósitos de transfusión de sangre, tiene particular importancia conocer los aspectos básicos de los sistemas **ABO** y **Rh**. Sin embargo, el conocimiento de los sistemas de grupo sanguíneo también tiene interés bioquímico, genético, inmunológico, antropológico, obstétrico, patológico y forense. Aquí sólo se comentarán algunas de las características clave del **sistema ABO**. Desde un punto de vista bioquímico, los principales intereses por las sustancias ABO han estribado en aislar y determinar su estructura, dilucidar sus vías de biosíntesis, y determinar la naturaleza de los productos de los genes A, B y O.

El sistema ABO tiene importancia crucial en la transfusión de sangre

Este sistema fue descubierto por Landsteiner en 1900 cuando estaba investigando la base de transfusiones compatibles e incompatibles en seres humanos. La membrana de los eritrocitos de la mayoría de los individuos contiene una sustancia de grupo sanguíneo del tipo A, tipo B, tipo AB o tipo O. Los individuos del **tipo A** tienen anticuerpos anti-B en el plasma y, así, aglutinarán sangre tipo B o tipo AB. Los individuos **tipo B** tienen anticuerpos anti-A, y aglutinarán sangre tipo A o tipo AB. La sangre **tipo AB** no tiene anticuerpos anti-A ni anti-B, y se ha designado el **receptor universal**. La sangre **tipo O** no tiene sustancias A ni B, y se ha designado el **donador universal**. La explicación de estos datos se relaciona con el hecho de que el cuerpo por lo general no produce anticuerpos contra sus propios constituyentes. De este modo, los individuos de tipo A no producen anticuerpos contra su propia sustancia de grupo sanguíneo, A, pero poseen anticuerpos contra la sustancia de grupo sanguíneo extraña, B, posiblemente porque hay estructuras similares en microorganismos a los cuales el cuerpo queda expuesto en etapas tempranas de la vida. Dado que los individuos de tipo O no tienen sustancias A ni B, poseen anticuerpos contra estas dos sustancias extrañas. La descripción anterior se ha simplificado considerablemente; por ejemplo, hay dos subgrupos del tipo A: A_1 y A_2.

Los genes de los cuales depende la producción de las sustancias ABO están presentes en el brazo largo del cromosoma 9. Hay **tres alelos**, dos de los cuales son codominantes (A y B) y el tercero (O), recesivo; éstos finalmente determinan los cuatro productos fenotípicos: las sustancias A, B, AB y O.

Las sustancias ABO son glucoesfingolípidos y glucoproteínas que comparten cadenas de oligosacárido

Las **sustancias ABO** son oligosacáridos complejos presentes en casi todas las células del cuerpo y en ciertas secreciones. Sobre las membranas de los eritrocitos, los oligosacáridos que determinan las naturalezas específicas de las sustancias ABO parecen estar en su mayor parte presentes en **glucoesfingolípidos**, mientras que en secreciones los mismos oligosacáridos están presentes en las **glucoproteínas**. Su presencia en las secreciones está determinada por un gen designado *Se* (de **secretor**), que codifica para una **fucosil** (**Fuc**) **transferasa** específica en órganos secretores, como las glándulas exocrinas, pero que no es activo en eritrocitos. Los individuos de genotipos *SeSe* o *Sese* secretan antígenos A o B (o ambos), mientras que los del genotipo *sese* no secretan sustancias A o B, pero sus eritrocitos pueden expresar los antígenos A y B.

La sustancia H es el precursor biosintético de las sustancias tanto A como B

Las sustancias ABO se han aislado, y se ha determinado su estructura; en la **figura 52-7** se presentan versiones simplificadas, que sólo muestran sus extremos no reductores. Tiene importancia apreciar primero la estructura de la **sustancia H**, puesto que es el precursor de las sustancias tanto A como B, y es la sustancia de grupo sanguíneo que se encuentra en personas de tipo O. La sustancia H en sí se forma mediante la acción de una **fucosiltransferasa**, que cataliza la adición de la fucosa terminal en enlace $\alpha 1 \rightarrow 2$ sobre el residuo Gal terminal de su precursor:

$$\underset{\text{Precursor}}{\text{GDP-Fuc} + \text{Gal-}\beta\text{-R}} \rightarrow \underset{\text{Sustancia H}}{\text{Fuc-}\alpha 1,2\text{-Gal-}\beta\text{-R}} + \text{GDP}$$

El *locus* H codifica para esta fucosiltransferasa. El alelo *h* del *locus* H codifica para una fucosil transferasa inactiva; por ende, los individuos del genotipo *hh* no pueden generar sustancia H, el precursor de los antígenos A y B. De este modo, los individuos del fenotipo *hh* tendrán eritrocitos del tipo O, aun cuando quizá posean las enzimas necesarias para producir las sustancias A o B (véase más adelante). Se dice que son del fenotipo Bombay (O_h).

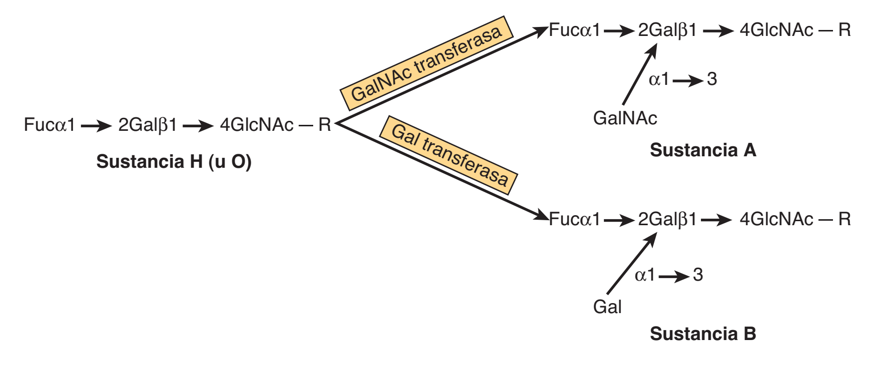


FIGURA 52–7 Representación esquemática de las estructuras de las sustancias de grupo sanguíneo H, A y B. R representa una cadena de oligosacárido compleja larga, unida a ceramida, donde las sustancias son glucoesfingolípidos, o al esqueleto polipeptídico de una proteína mediante un residuo serina o treonina, donde las sustancias son glucoproteínas. Note que las sustancias de grupo sanguíneo son biantenarias; esto es, tienen dos extremos, que se forman en un punto de ramificación (que no se indica) entre el GlcNAc—R, y sólo se muestra un brazo de la rama. De este modo, las sustancias H, A y B contienen, cada una, dos de sus cadenas de oligosacárido cortas respectivas mostradas antes. La sustancia AB contiene una cadena tipo A y una tipo B.

El gen *A* codifica para una GalNAc transferasa, el gen *B* para una Gal transferasa, y el gen *O* para un producto inactivo

En comparación con la sustancia H de grupo sanguíneo (figura 52-7), la **sustancia A** contiene un GalNAc adicional, y la **sustancia B** un Gal adicional, enlazados como se indica. Los anticuerpos anti-A se dirigen contra el residuo GalNAc adicional que se encuentra en la sustancia A, y los anticuerpos anti-B se dirigen hacia el residuo Gal adicional que se encuentra en la sustancia B. De este modo, GalNAc es el **azúcar inmunodominante** (esto es, el que determina la especificidad del anticuerpo formado) de la sustancia del grupo sanguíneo A, mientras que Gal es el azúcar inmunodominante de la sustancia B. En vista de los datos estructurales, no sorprende que la sustancia A pueda sintetizarse *in vitro* a partir de la sustancia O en una reacción catalizada por una GalNAc transferasa, en la que se emplea UDP-GalNAc como el azúcar donador. De modo similar, el grupo sanguíneo B puede sintetizarse a partir de la sustancia O mediante la acción de una Gal transferasa, que emplea UDP-Gal. Es crucial apreciar que el producto del gen *A* es la **GalNAc transferasa** que añade la terminal GalNAc a la sustancia O. De modo similar, el producto del gen *B* es la **Gal transferasa** que añade el residuo Gal a la sustancia O. Los individuos del **tipo AB** poseen ambas enzimas y, así, tienen dos cadenas de oligosacárido (figura 52-6), una determinada por un GalNAc, y la otra por un Gal. Los individuos del tipo O al parecer sintetizan una proteína inactiva, detectable por medios inmunológicos; de este modo, la sustancia H es su sustancia de grupo sanguíneo ABO.

En 1990, en un estudio en el que se usó tecnología de clonación y secuenciación se describió la naturaleza de las diferencias entre los productos glucosiltransferasa de los genes *A, B* y *O*. Una diferencia de cuatro nucleótidos al parecer es la causa de las especificidades distintas de las glucosiltransferasas A y B. Por otro lado, el alelo *O* tiene una mutación de par de base único, lo que causa una **mutación por cambio de cuadro**, lo que da por resultado una proteína que carece de actividad de transferasa.

CUADRO 52–9 Resumen de las principales características bioquímicas de los neutrófilos

• Glucólisis activa
• Vía de la pentosa fosfato activa
• Fosforilación oxidativa moderada
• Ricos en lisosomas y sus enzimas degradantes
• Contienen ciertas enzimas (p. ej., mieloperoxidasa y NADPH oxidasa) y proteínas singulares
• Contienen integrinas CD11/CD18 en la membrana plasmática

LOS NEUTRÓFILOS TIENEN UN METABOLISMO ACTIVO, Y CONTIENEN VARIAS ENZIMAS Y PROTEÍNAS SINGULARES

En el **cuadro 52-9** se resumen las principales características bioquímicas de los **neutrófilos**. Las características prominentes son glucólisis aeróbica activa, vía de la pentosa fosfato activa, fosforilación oxidativa moderadamente activa (porque las mitocondrias son relativamente escasas), y contenido alto de enzimas lisosómicas. Muchas de las enzimas que se listan en el cuadro

CUADRO 52-10 Algunas enzimas y proteínas importantes de neutrófilos[1]

Enzima o proteína	Reacción catalizadora o función	Comentario
Mieloperoxidasa (MPO)	$H_2O_2 + X^-$ (halido) $+ H^+ \rightarrow HOX + H_2O$ (donde $X^- = Cl^-$, HOX = ácido hipocloroso)	Imparte el color verde al pus La deficiencia genética puede causar infecciones recurrentes
NADPH oxidasa	$2O_2 + NADPH \rightarrow 2O_2^{\bar{}} + NADP + H^+$	Componente clave de la explosión respiratoria Deficiente en la enfermedad granulomatosa crónica
Lisozima	Hidroliza el enlace entre ácido *N*-acetilmurámico, y *N*-acetil-D-glucosamina que se encuentra en ciertas paredes de células bacterianas	Abundante en macrófagos
Defensinas	Péptidos antibióticos básicos de 20 a 33 aminoácidos	Al parecer mata bacterias al causar daño de membrana
Lactoferrina	Proteína de unión a hierro	Puede inhibir el crecimiento de ciertas bacterias al unirse a hierro, y quizá participe en la regulación de la proliferación de células mieloides
CD11a/CD18, CD11b/CD18, CD11c/CD18[2]	Moléculas de adherencia (miembros de la familia de integrina)	Escasos en la deficiencia de adherencia de leucocitos tipo I (OMIM 116920)
Receptores para fragmentos Fc de IgG	Se une a fragmentos Fc de moléculas de IgG	Dirigen complejos de antígeno-anticuerpo a células mieloides y linfoides, lo que desencadena fagocitosis y otras respuestas

[1] La expresión de muchas de estas moléculas se ha estudiado durante las diversas etapas de diferenciación de los neutrófilos normales y de las células leucémicas correspondientes con técnicas de biología molecular (p. ej., mediciones de sus mRNA específicos). Para la mayoría, se han aislado y secuenciado cDNA, deducido sus secuencias de aminoácidos, localizado los genes a lugares específicos de los cromosomas, y definido los exones e intrones. En el cuadro 52-13 se listan algunas proteinasas importantes de los neutrófilos.

[2] CD = agrupación de diferenciación. Esto se refiere a un sistema de nomenclatura uniforme que se ha adoptado para nombrar marcadores de superficie de leucocitos. Una proteína de superficie específica (marcador) que identifica a una línea o etapa de diferenciación de leucocitos particular, y que es reconocida por un grupo de anticuerpos monoclonales, se llama miembro de una agrupación de diferenciación. El sistema es en especial útil para categorizar las subclases de linfocitos. Muchos antígenos CD participan en interacciones entre una célula y otra, la adherencia y la emisión de señales transmembrana.

CUADRO 52–11 Fuentes de biomoléculas con propiedades vasoactivas involucradas en la inflamación aguda

Células cebadas y basófilos	Plaquetas	Neutrófilos	Proteínas plasmáticas
Histamina	Serotonina	Factor activador de plaquetas (PAF)	C3a, C4a y C5a del sistema de complemento
		Eicosanoides (diversas prostaglandinas y leucotrienos)	Bradicinina y productos de degradación de fibrina del sistema de la coagulación

52-5 también tienen importancia en el metabolismo oxidativo de neutrófilos (véase más adelante). En el **cuadro 52-10** se resumen las funciones de algunas proteínas que son relativamente singulares para los neutrófilos.

Los neutrófilos son participantes clave en la defensa del cuerpo contra la infección bacteriana

Los **neutrófilos** son células fagocíticas móviles del sistema inmunitario innato que desempeñan una función clave en la inflamación aguda. Cuando entran bacterias en los tejidos, sobrevienen varios fenómenos que se conocen en conjunto como "respuesta inflamatoria aguda". Incluyen: 1) aumento de la permeabilidad vascular, 2) entrada de neutrófilos activados en los tejidos, 3) activación de plaquetas y 4) resolución espontánea si se ha luchado exitosamente con los microorganismos invasores.

Varias de las moléculas se liberan a partir de células y proteínas plasmáticas durante la inflamación aguda, cuyo efecto general neto es aumentar la permeabilidad vascular, lo que da por resultado edema de tejido (**cuadro 52-11**).

En la inflamación aguda, los neutrófilos se reclutan desde el torrente sanguíneo hacia los tejidos para ayudar a eliminar los invasores extraños. Los neutrófilos son atraídos hacia los tejidos por **factores quimiotácticos**, entre ellos el fragmento de complemento C5a, péptidos pequeños derivados de bacterias (p. ej., *N*-formil-metionil-leucil-fenilalanina), y varios leucotrienos. Para llegar a los tejidos, los neutrófilos circulantes deben pasar por los capilares. Para lograr esto, se marginan a lo largo de las paredes del vaso, y después se adhieren a las células epiteliales (de revestimiento) de los capilares.

Las integrinas median la adherencia de neutrófilos a células endoteliales

La **adherencia de neutrófilos** a células endoteliales emplea proteínas adhesivas específicas (**integrinas**) localizadas sobre su superficie, y proteínas receptoras específicas en las células endoteliales. (Véase también la exposición sobre **selectinas** en el cap. 47.)

Las **integrinas** son una superfamilia de proteínas de superficie presentes en una amplia variedad de células. Participan en la **adherencia** de células a otras células o a componentes específicos de la matriz extracelular. Son **heterodímeros**, que contienen una subunidad α y una β enlazadas de manera no covalente. Las subunidades contienen segmentos extracelular, transmembrana e intracelular. Los **segmentos extracelulares** se unen a diversos ligandos, como proteínas específicas de la matriz extracelular, y de las superficies de otras células. Estos ligandos a menudo contienen secuencias ArgGli-Asp (R-G-D). Los **dominios intracelulares** se unen a diversas proteínas del citoesqueleto, como actina y vinculina. Las integrinas son proteínas que **enlazan los exteriores de las células a sus interiores**, lo que ayuda a integrar respuestas de células (p. ej., movimiento, fagocitosis) a cambios en el ambiente.

Inicialmente se reconocieron tres **subfamilias** de integrinas. Los miembros de cada subfamilia se distinguieron por contener una subunidad β común, pero difirieron en sus subunidades. Sin embargo, ahora se han identificado más de tres subunidades β, y la clasificación de las integrinas se ha hecho más bien compleja. En el **cuadro 52-12** se listan algunas integrinas de interés específico respecto a neutrófilos.

CUADRO 52–12 Ejemplos de integrinas importantes en la función de neutrófilos, de otros leucocitos, y de plaquetas[1]

Integrina	Célula	Subunidad	Ligando	Función
VLA-1 (CD49a)	Leucocitos, otras	α1β1	Colágeno, laminina	Adherencia de célula-ECM
VLA-5 (CD49e)	Leucocitos, otras	α5β1	Fibronectina	Adherencia de célula-ECM
VLA-6 (CD49f)	Leucocitos, otras	α6β1	Laminina	Adherencia de célula-ECM
LFA-1 (CD11a)	Leucocitos	αLβ2	ICAM-1	Adherencia de leucocitos
Glucoproteína IIb/IIIa	Plaquetas	αIIbβ3	ICAM-2	
Fibrinógeno, fibronectina, factor de von Willebrand	Adherencia y agregación plaquetarias			

[1] LFA-1, antígeno relacionado con la función de linfocitos 1; VLA, antígeno muy tardío; CD, agrupación de diferenciación; ICAM, molécula de adherencia intercelular; ECM, matriz extracelular. Una deficiencia de LFA-1 y de integrinas relacionadas se encuentra en la deficiencia de adherencia de leucocito tipo I (OMIM 116920). Una deficiencia del complejo de glucoproteína plaquetario IIb/IIIa se encuentra en la trombastenia de Glanzmann (OMIM 273800), enfermedad caracterizada por historial de hemorragia, recuento plaquetario normal, y retracción anormal del coágulo. Estos datos ilustran cómo el conocimiento fundamental de las proteínas de adherencia de superficie celular está aclarando la causa de varias enfermedades.

Una deficiencia de la subunidad β_2 (también designada CD18) de LFA-1, y de dos integrinas relacionadas que se encuentran en neutrófilos y macrófagos, Mac-1 (CD11b/CD18) y p150,95 (CD11c/CD18), causa **deficiencia de adherencia de leucocitos tipo 1**, una enfermedad caracterizada por infecciones bacterianas y micóticas recurrentes. Entre diversos resultados de esta deficiencia, la adherencia de los leucocitos afectados a células endoteliales está disminuida y, de este modo, números menores de neutrófilos entran en los tejidos para combatir infección.

Una vez que han pasado a través de las paredes de vasos sanguíneos de pequeño calibre, los neutrófilos migran hacia las concentraciones más altas de los factores quimiotácticos, encuentran las bacterias invasoras, e intentan atacarlas y destruirlas. Los neutrófilos deben estar **activados** para que se activen muchos de los procesos metabólicos involucrados en la fagocitosis y la muerte de bacterias.

La activación de neutrófilos es similar a la activación de plaquetas, y comprende hidrólisis de fosfatidilinositol bisfosfato

Los mecanismos involucrados en la activación de plaquetas se comentan en el capítulo 51 (figura 51-8). El proceso comprende interacción del estímulo (p. ej., trombina) con un receptor, activación de proteínas G, estimulación de fosfolipasa C, y liberación desde fosfatidilinositol bisfosfato de trifosfato de inositol y diacilglicerol. Estos dos segundos mensajeros dan por resultado un aumento del Ca^{2+} intracelular y activación de la proteína cinasa C. Además, la activación de la fosfolipasa A_2 produce ácido araquidónico que puede convertirse en diversos eicosanoides que tienen actividad biológica.

El proceso de **activación de neutrófilos** es en esencia similar. Se activan, mediante receptores específicos, por interacción con bacterias, unión de factores quimiotácticos, o complejos de antígeno-anticuerpo. El **aumento** resultante **del Ca^{2+} intracelular** afecta muchos procesos en neutrófilos, como el montaje de microtúbulos y el sistema de actina-miosina. Estos procesos participan, respectivamente, en la secreción del contenido de gránulos, y en la motilidad, que permite a los neutrófilos buscar a los invasores. Los neutrófilos activados ahora se encuentran listos para destruir a los invasores mediante mecanismos que incluyen producción de derivados activos de oxígeno.

La explosión respiratoria de las células fagocíticas comprende NADPH oxidasa, y ayuda a matar bacterias

Cuando los neutrófilos y otras células fagocíticas fagocitan bacterias, muestran un rápido aumento del consumo de oxígeno, conocido como **la explosión respiratoria**. Este fenómeno refleja la utilización rápida de oxígeno (después de un retraso de 15 a 60 segundos) y producción a partir del mismo de grandes cantidades de **derivados reactivos**, como $O_2^{\overline{\cdot}}$, H_2O_2, $OH^{\bullet}$, y OCl^- (ion hipoclorito). Algunos de estos productos son potentes agentes microbicidas.

El **sistema de cadena de transporte de electrón** que se encarga de la explosión respiratoria (llamado NADPH oxidasa) consta de varios componentes. Uno es el **citocromo *b*$_{558}$**, ubicado en la membrana plasmática; es un heterodímero, que contiene dos polipéptidos de 91 y 22 kDa. Cuando el sistema se activa (véase más adelante), dos polipéptidos citoplásmicos de 47 y 67 kDa se reclutan hacia la membrana plasmática y, junto con el citocromo b_{558}, forman la **NADPH oxidasa** que se encarga de la explosión respiratoria. La reacción catalizada por NADPH oxidasa, que comprende la formación de anión superóxido, se muestra en el cuadro 52-5 (reacción 2). Este sistema cataliza la reducción de un electrón de oxígeno hacia anión superóxido. El NADPH se genera principalmente mediante el ciclo de la pentosa fosfato, cuya actividad aumenta de manera notoria durante la fagocitosis.

La reacción anterior va seguida por la producción espontánea (por dismutación espontánea) de **peróxido de hidrógeno** a partir de dos moléculas de superóxido:

$$O_2^{\overline{\cdot}} + O_2^{\overline{\cdot}} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

El **ion superóxido** se descarga hacia el exterior de la célula o hacia fagolisosomas, donde encuentra bacterias ingeridas. La muerte de bacterias dentro de fagolisosomas parece depender de la acción combinada de pH alto, ion superóxido, o derivados del oxígeno adicionales (H_2O_2, $OH^{\bullet}$ y HOCl [ácido hipocloroso; véase más adelante]) y de la acción de ciertos péptidos bactericidas (defensinas) y otras proteínas (p. ej., catepsina G y ciertas proteínas catiónicas) presentes en células fagocíticas. Cualquier superóxido que entra en el citosol de las células fagocíticas se convierte en H_2O_2 mediante la acción de la **superóxido dismutasa**, que cataliza la misma reacción que la dismutación espontánea antes mostrada. A su vez, el H_2O_2 es usado por la mieloperoxidasa (véase más adelante) o se elimina por medio de la acción de la glutatión peroxidasa o la catalasa.

La **NADPH oxidasa** es inactiva en células fagocíticas en reposo, y se **activa** en el momento del contacto con diversos ligandos (fragmento C5a del complemento, péptidos quimiotácticos, etc.) con receptores en la membrana plasmática. Los eventos que dan por resultado la activación del sistema de oxidasa se han estudiado mucho, y son similares a los antes descritos para el proceso de activación de neutrófilos. Comprenden **proteínas G**, activación de **fosfolipasa C**, y generación de **1,4,5-trifosfato de inositol** (IP_3). Este último media un aumento transitorio de la concentración de Ca^{2+} citosólico, que es esencial para la inducción de la explosión respiratoria. También se genera **diacilglicerol** e induce la translocación de la proteína cinasa C hacia la membrana plasmática desde el citosol, donde cataliza la **fosforilación** de diversas proteínas, algunas de las cuales son componentes del sistema de oxidasa. También opera una segunda vía de activación que no comprende Ca^{2+}.

Las mutaciones en los genes que codifican para componentes del sistema de NADPH oxidasa causan enfermedad granulomatosa crónica

La importancia del **sistema de NADPH oxidasa** se demostró con claridad cuando se observó que la explosión respiratoria era defectuosa en la **enfermedad granulomatosa crónica**, padecimiento relativamente raro caracterizado por infecciones

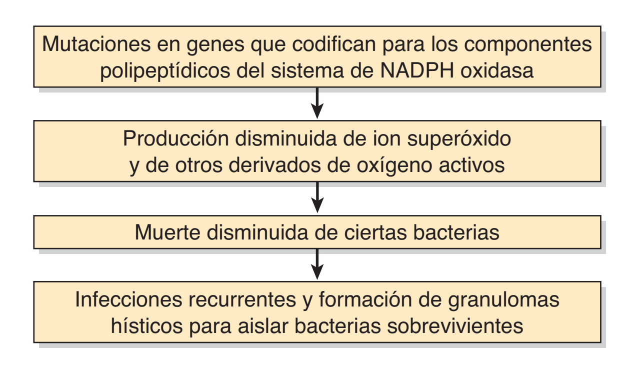


FIGURA 52–8 Esquema simplificado de la secuencia de eventos involucrados en la causa de la enfermedad granulomatosa crónica (OMIM 306400). Las mutaciones en cualquiera de los genes que codifican para los cuatro polipéptidos involucrados (dos son componentes del citocromo b_{558} y dos se derivan del citoplasma) pueden causar la enfermedad. El polipéptido de 91 kDa es codificado por un gen en el cromosoma X; alrededor de 60% de los casos de enfermedad granulomatosa crónica está ligado a X; el resto se hereda de manera autosómica recesiva.

recurrentes y granulomas diseminados (lesiones inflamatorias crónicas) en la piel, los pulmones y los ganglios linfáticos. Los granulomas se forman en un intento por aislar bacterias que no han muerto, debido a deficiencias genéticas en el sistema de NADPH oxidasa. El trastorno se debe a mutaciones en los genes que codifican para los cuatro polipéptidos que constituyen el sistema de NADPH oxidasa. Algunos pacientes han mostrado respuesta al tratamiento con interferón-γ, que puede aumentar la transcripción del componente de 91 kDa si está afectado. Se están haciendo intentos por crear terapia génica para esta enfermedad. En la **figura 52-8** se muestra la probable secuencia de eventos comprendidos en la causa de la enfermedad granulomatosa crónica.

Los neutrófilos contienen mieloperoxidasa, que cataliza la producción de oxidantes clorados

La enzima **mieloperoxidasa**, presente en grandes cantidades en gránulos de neutrófilos, y que imparte el color verde al pus, puede actuar sobre el H_2O_2 para producir ácidos hipohalosos:

$$H_2O_2 + X^- + H^+ \xrightarrow{\text{MIELOPEROXIDASA}} HOX + H_2O$$

(X^- = Cl^-, Br^-, I^- o SCN^-; HOCl = ácido hipocloroso)

El H_2O_2 que se usa como sustrato se genera mediante el sistema de NADPH oxidasa. El Cl^- es el halido que por lo general se emplea, porque está presente en concentración relativamente alta en el plasma y los líquidos corporales. El **HOCl**, el ingrediente activo del blanqueador líquido doméstico, es un potente oxidante y es altamente microbicida. Cuando se aplica en tejidos normales, su potencial para causar daño disminuye porque reacciona con aminas primarias o secundarias presentes en neutrófilos y tejidos para producir diversos derivados nitrógeno-cloro; estas **cloroaminas** también son oxidantes, aunque menos potentes que el HOCl, y actúan como agentes microbicidas (p. ej., en la esterilización de heridas) sin causar daño de tejidos.

CUADRO 52–13 Proteinasas de neutrófilos y antiproteinasas del plasma y los tejidos[1]

Proteinasas	Antiproteinasas
Elastasa	α_1-Antiproteinasa (α_1-antitripsina)
Colagenasa	α_2-Macroglobulina
Gelatinasa	Inhibidor de leucoproteinasa secretor
Catepsina G	α_1-Antiquimotripsina
Activador del plasminógeno	Inhibidor del activador del plasminógeno-1
	Inhibidor hístico de metaloproteinasa

[1] En el cuadro se listan algunas de las proteinasas importantes de neutrófilos y algunas de las proteínas que pueden inhibir sus acciones. Casi todas las proteínas listadas existen dentro de neutrófilos como precursores. Las proteinasas listadas pueden digerir muchas proteínas de la matriz extracelular, lo que causa daño de tejido. El equilibrio general de la acción de proteinasa:antiproteinasa puede alterarse al activar los precursores de las proteinasas, o al desactivar las antiproteinasas. Esto último puede producirse por degradación proteolítica o modificación química, por ejemplo, el humo de cigarrillos oxida la Met-358 del inhibidor α_1-antiproteinasa.

Las proteinasas de neutrófilos pueden causar serio daño de tejido si sus acciones no se controlan

Los neutrófilos contienen varias proteinasas (**cuadro 52-13**) que pueden hidrolizar la elastina, diversos tipos de colágenos, y otras proteínas presentes en la matriz extracelular. Si se permite que esa acción enzimática proceda sin restricción, puede dar por resultado serio daño de tejidos. Casi todas estas proteínas son **enzimas lisosómicas** y existen principalmente como precursores inactivos en neutrófilos normales. Pequeñas cantidades de estas enzimas se liberan hacia tejidos normales; las cantidades aumentan de manera notoria durante la inflamación. Las actividades de la elastasa y de otras proteinasas en circunstancias normales se mantienen a raya por medio de diversas **antiproteinasas** (que también se listan en el cuadro 52-13) presentes en el plasma y el líquido extracelular. Cada una de ellas se puede combinar —por lo general formando un complejo no covalente— con una o más proteinasas específicas y, así, causar inhibición. En el capítulo 50 se mostró que una deficiencia genética de **inhibidor α_1-antiproteinasa** (α_1-antitripsina) permite que la elastasa actúe sin oposición y digiera tejido pulmonar, lo que participa en la causa del enfisema. La **α_2-macroglobulina** es una proteína plasmática que desempeña una importante función en la defensa del cuerpo contra la acción excesiva de proteasas; se combina con diversas proteasas importantes y, así, neutraliza sus actividades (cap. 50).

Cuando se forman cantidades aumentadas de oxidantes clorinados durante inflamación, afectan el equilibrio entre proteinasa y antiproteinasa, y lo inclinan a favor de la primera. Por ejemplo, algunas de las proteínas que se listan en el cuadro 52-13 se **activan** mediante HOCl, mientras que este compuesto **desactiva** algunas de las antiproteinasas. Además, la elastasa activada puede hidrolizar el inhibidor hístico de metaloproteinasas y la α_1-antiquimotripsina, y la colagenasa y gelatinasa activadas pueden hidrolizar el inhibidor α_1-antiproteinasa. En casi todas las circunstancias, se logra **un equilibrio apropiado** de proteinasas y antiproteinasas. Sin embargo, en ciertas circunstancias, como

en el pulmón cuando hay deficiencia de inhibidor α_1-antiproteinasa o cuando grandes cantidades de neutrófilos se acumulan en tejidos debido a drenaje inadecuado, puede sobrevenir considerable **daño de tejido** por la acción de proteinasas sin oposición.

LA TECNOLOGÍA DE DNA RECOMBINANTE HA TENIDO PROFUNDAS REPERCUSIONES SOBRE LA HEMATOLOGÍA

La **tecnología de DNA recombinante** ha tenido repercusiones importantes sobre muchos aspectos de la hematología. Investigaciones en las que se han usado clonación y secuenciación han esclarecido mucho las bases de las **talasemias** y de muchos **trastornos de la coagulación** (cap. 51). El estudio de oncogenes y translocaciones cromosómicas ha aumentado el entendimiento de las **leucemias**. Como se comentó, técnicas de clonación han puesto a disposición cantidades terapéuticas de **eritropoyetina** y **otros factores de crecimiento**. La deficiencia de **adenosina desaminasa**, que afecta a linfocitos en particular, es la primera enfermedad que se trató mediante terapia génica (caso núm. 1, cap. 57). Al igual que muchas otras áreas de la biología y la medicina, esta tecnología ha revolucionado la hematología, y seguirá haciéndolo. La **biología de sistemas** es otro método que está empezando a aplicarse a la hematopoyesis normal y anormal. Depende en su mayor parte de herramientas matemáticas, de ingeniería y computacionales para entender más procesos biológicos complejos, como la hematopoyesis. Los avances en genómica y proteómica también serán cruciales para su desarrollo futuro.

RESUMEN

- Algunos tipos de anemias son estados muy prevalecientes. Las principales causas de anemia son pérdida de sangre; deficiencias de hierro, folato y vitamina B_{12}, y diversos factores que causan hemólisis.
- El eritrocito es sencillo en lo que se refiere a su estructura y función; consta principalmente de una solución concentrada de hemoglobina rodeada por una membrana.
- La producción de eritrocitos es regulada por la eritropoyetina, mientras que otros factores de crecimiento (p. ej., factores estimulantes de colonias de granulocitos y de colonias de granulocitos-macrófagos) regulan la producción de leucocitos.
- El eritrocito contiene una batería de enzimas citosólicas, como superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, para eliminar los potentes oxidantes (ROS) que se generan durante su metabolismo.
- La deficiencia, determinada por mecanismos genéticos, de la actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, que produce NADPH, es una importante causa de anemia hemolítica.
- La metahemoglobina es incapaz de transportar oxígeno; se reconocen causas tanto genéticas como adquiridas de metahemoglobinemia.
- Se ha acumulado considerable información respecto a las proteínas y los lípidos de la membrana eritrocítica. Varias proteínas del citoesqueleto, como la espectrina, anquirina y actina, interactúan con proteínas de membrana integrales específicas para ayudar a regular la forma y la flexibilidad de la membrana.
- La deficiencia de espectrina da por resultado esferocitosis hereditaria y eliptocitosis hereditaria, de las cuales ambas causan anemia hemolítica.
- Las sustancias del grupo sanguíneo ABO en la membrana eritrocítica son glucoesfingolípidos complejos; el azúcar inmunodominante de la sustancia A es la *N*-acetil-galactosamina, mientras que el de la sustancia B es la galactosa. La sustancia O no contiene ninguno de estos dos residuos azúcar en los enlaces particulares que se encuentran en las sustancias A y B.
- Los neutrófilos desempeñan una función importante en los mecanismos de defensa del cuerpo. Las integrinas sobre sus membranas de superficie determinan interacciones específicas con diversos componentes de células y tejidos.
- Los leucocitos se activan en el momento de la exposición a bacterias y otros estímulos; la NADPH oxidasa desempeña una función clave en el proceso de activación (la explosión respiratoria). Las mutaciones en esta enzima y proteínas relacionadas causan enfermedad granulomatosa crónica.
- Las proteinasas de neutrófilos pueden digerir muchas proteínas de tejido; en circunstancias normales, esto se mantiene a raya mediante una batería de antiproteinasas. Sin embargo, este mecanismo de defensa puede quedar superado en ciertas circunstancias, lo que da por resultado extenso daño de tejido.
- La aplicación de tecnología de DNA recombinante está revolucionando el campo de la hematología.

REFERENCIAS

Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, et al (editors): *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 17th ed. McGraw-Hill, 2008. (Los capítulos 58, 61 y del 98 al 108 abordan varios trastornos hematológicos. Los capítulos 66-68 tratan diversos aspectos de células hematopoyéticas y otras células madre.)

Hofmann R, Benz Jr EJ, Shattal SJ, et al (editors): *Hematology: Basic Principles and Practice,* 4th ed. Elsevier Churchill Livingston, 2005.

Imlay JA: Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide. Annu Rev Biochem 2008;77:755.

Israels SJ (editor): *Mechanisms in Hematology,* 4th 3rd ed. Core Health Sciences Inc, 2011.

Naria A, Ebert BL: Ribosomopathies: human disorders of ribosome dysfunction. Blood 2010;115:3196.

Orkin SH, Higgs DR: Sickle cell disease at 100 years. Science 2010;329:291.

Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, et al (editors): *The Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001. (Este texto está ahora disponible en línea y actualizado como The Online Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease en www.ommbid.com; aunque se requiere suscripción, es posible acceder vía las bibliotecas de universidades y hospitales, así como algunas otras fuentes.) Varios capítulos tratan sobre temas descritos en este capítulo.

van den Berg JM, van Koppen E, Ahlin A, et al: Chronic granulomatous disease: the European experience. PLoS ONE 2009;4:e5234.

Weatherall DJ: The inherited diseases of hemoglobin are an emerging global health problem. Blood 2010;115:4331.

Whichard ZL, Sarkar CA, Kimmel M, Corey SJ: Hematopoiesis and its disorders: a systems biology approach. Blood 2010;115:2339.

Yonekawa K, Harlan JM: Targeting leukocyte integrins in human diseases. J Leukoc Biol 2005;77:129.

CAPÍTULO

53

Metabolismo de xenobióticos

Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Comentar la manera en que los fármacos y otros xenobióticos son metabolizados en el organismo.
- Describir las dos fases generales del metabolismo de xenobióticos; la primera comprende principalmente reacciones de hidroxilación catalizadas por especies del citocromo P450, y la segunda, reacciones de conjugación catalizadas por diversas enzimas.
- Indicar la importancia metabólica del glutatión.
- Apreciar que los xenobióticos pueden causar efectos farmacológicos, tóxicos, inmunitarios y carcinogénicos.
- Comprender el modo en que el conocimiento de la farmacogenómica debe ayudar a personalizar el uso de medicamentos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los seres humanos quedan sujetos cada vez más a exposición a diversas sustancias químicas extrañas (**xenobióticos**): fármacos, aditivos de alimentos, contaminantes, etc. La situación se resume bien en la cita que sigue de Rachel Carson: "Como un arma tan letal como el garrote del hombre de las cavernas, el bombardeo químico se ha lanzado contra la fábrica de la vida". **El entendimiento de cómo los xenobióticos se manejan en el ámbito celular** es importante para aprender cómo afrontar la arremetida química y, así, ayudar a **preservar el ambiente**. Por ejemplo, con base en esa información, se están haciendo intentos por modificar microorganismos al introducir genes que codifican para diversas enzimas involucradas en el metabolismo de xenobióticos específicos hacia productos inocuos. Estos organismos modificados a continuación se usarán para ayudar a eliminar diversos contaminantes del planeta.

El conocimiento del metabolismo de xenobióticos es básico para un entendimiento racional de la farmacología y terapéutica, la farmacia, la toxicología, manejo del cáncer, y drogadicción. Todas estas áreas comprenden la administración de xenobióticos o la exposición a los mismos.

LOS SERES HUMANOS ENCUENTRAN MILES DE XENOBIÓTICOS QUE SE DEBEN METABOLIZAR ANTES DE EXCRETARSE

Un **xenobiótico** (del griego *xenos*, "extranjero") es un compuesto que es extraño al cuerpo. Las principales clases de xenobióticos de importancia médica son los **fármacos**, los **carcinógenos químicos**, y **diversos compuestos** que se han introducido al ambiente mediante una u otra ruta, como los bifeniles policlorados (PCB) y ciertos insecticidas. Hay más de 200 000 sustancias químicas ambientales manufacturadas. Casi todos estos compuestos quedan sujetos a metabolismo (alteración química) en el cuerpo humano; el hígado es el principal órgano involucrado; en ocasiones, un xenobiótico puede excretarse sin cambios. **Al menos 30 enzimas diferentes** catalizan reacciones comprendidas en el metabolismo de xenobióticos; sin embargo, en este capítulo sólo se cubrirá un grupo selecto de ellas.

Es conveniente considerar el metabolismo de los xenobióticos en dos fases. En la **fase 1**, la principal reacción involucrada es la **hidroxilación**, catalizada principalmente por miembros de una clase de enzimas denominadas **monooxigenasas** o **citocromos P450**. La hidroxilación puede terminar la acción de un fármaco, aunque no siempre sucede así. Además de la hidroxilación, estas enzimas catalizan **una amplia gama de reacciones**, incluso las que comprenden desaminación, deshalogenación, desulfuración, epoxidación, peroxigenación y reducción. En la fase 1 también ocurren reacciones que comprenden hidrólisis (p. ej., catalizadas por esterasas) y algunas otras reacciones no catalizadas por P450.

En la **fase 2**, los compuestos hidroxilados u otros compuestos producidos en la fase 1 se convierten mediante enzimas específicas en **diversos metabolitos polares** por medio de **conjugación** con ácido glucurónico, sulfato, acetato, glutatión y ciertos aminoácidos, o mediante **metilación**.

El propósito general de las dos fases del metabolismo de xenobióticos es aumentar su **hidrosolubilidad** (**polaridad**) y,

así, la **excreción** desde el cuerpo. Los xenobióticos muy hidrofóbicos persistirían en el tejido adiposo por tiempo casi indefinido si no se convirtieran en formas más polares. En ciertos casos, reacciones metabólicas de fase 1 convierten a los xenobióticos desde compuestos **inactivos** hacia compuestos **con actividad biológica**. En estas circunstancias, los xenobióticos originales se denominan **"profármacos"** o **"procarcinógenos"**. En otros casos, reacciones de fase 1 adicionales (p. ej., reacciones de hidroxilación adicionales) convierten los compuestos activos en formas menos activas o inactivas antes de conjugación. En aun otros casos, son las reacciones de conjugación mismas las que convierten los productos activos de reacciones de fase 1 en especies menos activas o inactivas, que después se excretan en la orina o la bilis. En muy pocos casos, la conjugación en realidad puede aumentar la actividad biológica de un xenobiótico.

El término **"destoxificación"** a veces se usa para muchas de las reacciones comprendidas en el metabolismo de xenobióticos; sin embargo, el término no siempre es apropiado porque, como se mencionó, en algunos casos las reacciones a las cuales quedan sujetos los xenobióticos en realidad **aumentan** su actividad biológica y toxicidad.

ISOFORMAS DE CITOCROMO P450 HIDROXILAN MUCHÍSIMOS XENOBIÓTICOS EN LA FASE 1 DE SU METABOLISMO

La **hidroxilación** es la principal reacción involucrada en la fase 1. Las enzimas de las cuales depende se denominan **monooxigenasas** o **citocromos P450**. Se estima que hay alrededor de 57 genes que codifican para citocromo P450 en seres humanos. La reacción catalizada por una monooxigenasa (citocromo P450) es como sigue:

$$RH + O_2 + NADPH + H^+ \rightarrow R\text{-}OH + H_2O + NADP$$

donde RH puede representar una variedad muy amplia de xenobióticos, entre ellos fármacos, carcinógenos, plaguicidas, productos del petróleo y contaminantes (como una mezcla de PCB). Además, los **compuestos endógenos**, como ciertos esteroides, eicosanoides, ácidos grasos y retinoides, también son sustratos. Los sustratos por lo general son **lipofílicos** y se vuelven más **hidrofílicos** mediante hidroxilación.

El citocromo P450 se considera el **biocatalítico más versátil** conocido. El mecanismo de reacción real es complejo y ya se describió brevemente (figura 12-6). Se ha mostrado mediante el uso de $^{18}O_2$ que un átomo de oxígeno entra a R–OH, y un átomo entra a agua. Este destino doble del oxígeno explica la denominación anterior de las monooxigenasas como **"oxidasas de función mixta"**. La reacción catalizada por el citocromo P450 también puede representarse como sigue:

$$\text{Citocromo P450 reducido} \curvearrowright \text{citocromo P450 oxidado}$$
$$RH + O_2 \rightarrow R\text{–}OH + H_2O$$

El citocromo P450 se denomina así porque la enzima se descubrió cuando se notó que preparaciones de **microsomas** que se habían reducido químicamente y después expuesto a monóxido de carbono **mostraban un pico definido en 450 nm**. Los microsomas contienen fragmentos del retículo endoplásmico, donde está ubicado gran parte del contenido del P450 de las células (véase más adelante). Entre las razones por las cuales esta enzima es importante figura el hecho de que **alrededor de 50% de los fármacos que los seres humanos ingieren con frecuencia**, **se metaboliza mediante isoformas de citocromo P450**; estas enzimas también actúan sobre diversos carcinógenos y contaminantes. Los principales citocromos P450 en el metabolismo de fármacos son miembros de las familias CYP1, CYP2 y CYP3 (véase más adelante).

Isoformas del citocromo P450 constituyen una superfamilia de enzimas que contienen hem

Los que siguen son puntos importantes respecto a los citocromos P450.

1. Debido al **gran número de isoformas** (alrededor de 150) que se han descubierto, adquirió importancia tener una **nomenclatura sistemática** para isoformas de P450 y para sus genes. Ahora tal nomenclatura está disponible, se usa ampliamente, y se basa en la homología estructural. El símbolo raíz abreviado CYP denota un citocromo P450. Esto va seguido por un número arábigo que designa la **familia**; los citocromos P450 quedan incluidos en la misma familia si muestran 40% o más de identidad de secuencia de aminoácidos. El número arábigo va seguido por una letra mayúscula que indica la **subfamilia**, si hay dos o más miembros; los P450 están en la misma subfamilia si muestran más de 55% de identidad de secuencia. A continuación se asignan de manera arbitraria números arábigos a P450 **individuales**. Así, CYP1A1 denota un citocromo P450 que es miembro de la familia 1 y la subfamilia A, y que es el primer miembro individual de esa subfamilia. La nomenclatura para los **genes** que codifican para citocromos P450 es idéntica a la antes descrita, salvo porque se usan letras cursivas; de este modo, el gen que codifica para CYP1A1 es *CYP1A1*.

2. Al igual que la **hemoglobina**, son hemoproteínas.

3. Están **ampliamente distribuidos a través de especies**, incluso bacterias.

4. Se encuentran en cantidad mayor en **células hepáticas** y enterocitos, pero probablemente están presentes en todos los tejidos. En el hígado y en casi todos los otros tejidos, se encuentran principalmente en las **membranas del retículo endoplásmico liso**, que constituyen parte de la **fracción microsómica** cuando el tejido queda sujeto a fraccionamiento subcelular. En microsomas hepáticos, los citocromos P450 pueden comprender hasta 20% de la proteína total. Los P450 están presentes en casi todos los tejidos, aunque a menudo en cantidades bajas en comparación con el hígado. En las **suprarrenales**, se encuentran en **mitocondrias**, así como en el retículo endoplásmico; las diversas hidroxilasas presentes en ese órgano tienen un papel importante en la biosíntesis de colesterol y esteroides. El sistema de citocromo P450 mitocondrial difiere del sistema microsómico por cuanto usa una flavoproteína enlazada a NADPH, **adrenodoxina reductasa**, y una proteína de hierro-azufre no hem, la **adrenodoxina**. Además, las isoformas de P450 específicas involucradas en la biosíntesis de esteroides por lo general están mucho más restringidas en su especificidad de sustrato.

5. Al menos seis especies diferentes de citocromo P450 se encuentran en el retículo endoplásmico del hígado del ser humano, cada una con **especificidades de sustrato** amplias y un poco superpuestas, y que actúan tanto sobre xenobióticos como sobre compuestos endógenos. Durante los últimos años se han aislado y estudiado con detalle los genes que codifican para muchas isoformas de P450 (tanto de seres humanos como de animales, como la rata). La combinación de ellos, siendo que hay **varios tipos diferentes**, **cada uno con especificidad de sustrato relativamente amplia**, explica por qué la familia de citocromo P450 es capaz de metabolizar miles de sustancias químicas diferentes.

6. El **NADPH**, no el NADH, participa en el mecanismo de reacción del citocromo P450. La enzima que utiliza NADPH para dar el citocromo P450 reducido, que se muestra en el lado izquierdo de la ecuación anterior, se llama **NADPH-citocromo P450 reductasa**. Los electrones se transfieren desde el NADPH hacia la NADPH-citocromo P450 reductasa, y después hacia el citocromo P450. Esto lleva a la **activación reductiva de oxígeno molecular**, y después se inserta un átomo de oxígeno en el sustrato. El **citocromo b_5**, otra hemoproteína que se encuentra en las membranas del retículo endoplásmico liso (cap. 12), puede quedar involucrado como un donador de electrón en algunos casos.

7. Los **lípidos** también son componentes del sistema de citocromo P450. El lípido preferido es la **fosfatidilcolina**, que es el principal lípido que se encuentra en las membranas del retículo endoplásmico.

8. Casi todas las isoformas del citocromo P450 son **inducibles**. Por ejemplo, la administración de fenobarbital o de muchos otros fármacos causa hipertrofia del retículo endoplásmico liso y triplicación a cuadruplicación de la cantidad de citocromo P450 en el transcurso de cuatro a cinco días. El mecanismo de inducción se ha estudiado extensamente, y casi siempre comprende **transcripción aumentada de mRNA** para citocromo P450. Sin embargo, ciertos casos de inducción involucran **estabilización de mRNA**, **estabilización de enzima**, u **otros mecanismos** (p. ej., un efecto sobre la traducción).

La inducción de citocromo P450 tiene importantes inferencias clínicas, debido a que es un mecanismo bioquímico de **interacción farmacológica**. Una interacción farmacológica ha ocurrido cuando los efectos de un fármaco se alteran por la administración previa, concurrente o posterior de otro. Como un ejemplo, considérese la situación en la cual un paciente está tomando el anticoagulante **warfarina** para prevenir coagulación de la sangre. Este fármaco se metaboliza mediante **CYP2C9**. Al mismo tiempo, se empieza a tratar al paciente con **fenobarbital** (un inductor de este P450) para combatir un cierto tipo de epilepsia, pero no se modifica la dosis de warfarina. Después de alrededor de cinco días, la concentración de CYP2C9 en el hígado del paciente estará aumentada 3 a 4 veces. Esto a su vez significa que la warfarina se **metabolizará con mucha mayor rapidez que antes**, y su **dosificación se habrá hecho inadecuada**. Por ende, la **dosis se debe aumentar** para que la warfarina tenga eficacia terapéutica. Para proseguir con este ejemplo, podría surgir **un problema** más tarde **si se suspendiera el fenobarbital** pero la dosificación aumentada de warfarina permaneciera igual. El paciente tendrá riesgo de sangrado, puesto que la dosis alta de warfarina será aún más activa que antes, porque la concentración de CYP2C9 declinará una vez que se haya suspendido el fenobarbital.

Otro ejemplo de la inducción enzimática comprende el **CYP2E1**, que se induce por consumo de **etanol**. Éste es un motivo de preocupación, porque este P450 metaboliza ciertos solventes ampliamente usados, y componentes que se encuentran en el humo de tabaco, muchos de los cuales son **carcinógenos** establecidos. De este modo, si la actividad de CYP2E1 aumenta por inducción, esto puede incrementar el riesgo de carcinogenicidad por exposición a esos compuestos.

9. Ciertas isoformas del citocromo P450 (**p. ej.**, **CYP1A1**) están particularmente involucradas en el metabolismo de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) y moléculas relacionadas; por la razón antes mencionada se les denominaba **hidrocarburo aromático hidroxilasas** (**AHH**). Esta enzima es importante en el metabolismo de PAH y en la carcinogénesis producida por estos agentes. Por ejemplo, en los pulmones puede quedar involucrada en la conversión de PAH inactivos (procarcinógenos), inhalados al fumar, en carcinógenos activos mediante reacciones de hidroxilación. Los fumadores tienen concentraciones más altas de esta enzima en algunas de sus células y tejidos que los no fumadores. Algunos informes han indicado que la actividad de esta enzima puede estar alta (inducida) en **la placenta** de una fumadora, lo que en potencia altera las cantidades de metabolitos de PAH (algunos de los cuales podrían ser perjudiciales) a los que el feto queda expuesto.

10. Ciertos citocromos P450 existen en **formas polimórficas** (isoformas genéticas), algunas de las cuales muestran actividad catalítica baja. Estas observaciones resultan una explicación importante para las variaciones de las respuestas farmacológicas que se notan entre muchos pacientes. Un P450 que muestra polimorfismo es **CYP2D6**, que participa en el metabolismo de la **debrisoquina** (un antihipertensor; cuadro 53-2) y **esparteína** (un antiarrítmico y oxitócico). Ciertos polimorfismos de CYP2D6 causan metabolismo inadecuado de éstos y de varios otros fármacos, de modo que pueden acumularse en el cuerpo, lo que da por resultado consecuencias adversas. Otro polimorfismo interesante, es el de **CYP2A6**, que participa en el metabolismo de la **nicotina** hacia conitina. Se han identificado tres alelos de *CYP2A6:* un tipo natural y dos alelos nulos o inactivos. Se ha reportado que los individuos con los alelos nulos, quienes tienen metabolismo alterado de la nicotina, al parecer están protegidos contra hacerse fumadores dependientes del tabaco (cuadro 53-2). Estos individuos fuman menos, probablemente porque las concentraciones de nicotina en su sangre y cerebro permanecen altas durante más tiempo que en quienes tienen el alelo tipo natural. Se ha especulado que inhibir el CYP2A6 puede ser una nueva manera de ayudar a prevenir tabaquismo y tratarlo.

En el **cuadro 53-1** se resumen algunas de las principales características de los citocromos P450.

REACCIONES DE CONJUGACIÓN PREPARAN A LOS XENOBIÓTICOS PARA EXCRECIÓN EN LA FASE 2 DE SU METABOLISMO

En las reacciones de fase 1, los xenobióticos por lo general se convierten en derivados hidroxilados más polares. En las reacciones de fase 2, estos derivados se conjugan con moléculas

CUADRO 53–1 Algunas propiedades de los citocromos P450

- Participan en la fase 1 del metabolismo de innumerables xenobióticos, entre ellos quizá 50% de los fármacos administrados a seres humanos; pueden aumentar, disminuir o no afectar las actividades de diversos fármacos.
- Participan en el metabolismo de muchos compuestos endógenos (p. ej., esteroides).
- Todos son hemoproteínas.
- A menudo muestran amplia especificidad de sustrato; de este modo, actúan sobre muchos compuestos; en consecuencia, diferentes P450 pueden catalizar la formación del mismo producto.
- Catalíticos en extremo versátiles, quizá catalizan alrededor de 60 tipos de reacciones.
- Sin embargo, básicamente catalizan reacciones que comprenden la introducción de un átomo de oxígeno hacia el sustrato, y uno hacia agua.
- Sus productos hidroxilados son más hidrosolubles que sus sustratos por lo general lipofílicos, lo que facilita la excreción.
- El hígado contiene cantidades más altas, pero se encuentran en casi todos los tejidos, si no es que en todos, incluso el intestino delgado, el cerebro y los pulmones.
- Están localizados en el retículo endoplásmico liso o en mitocondrias (hormonas esteroidogénicas).
- En algunos casos, sus productos son mutagénicos o carcinogénicos.
- Muchos tienen una masa molecular de alrededor de 55 kDa.
- Muchos son inducibles, lo que constituye una causa de interacciones farmacológicas.
- Muchos quedan inhibidos por diversos fármacos u otros productos metabólicos, lo que proporciona otra causa de interacciones farmacológicas.
- Algunos muestran polimorfismos genéticos, que pueden dar por resultado metabolismo atípico de fármacos.
- Sus actividades pueden estar alteradas en tejidos enfermos (p. ej., cirrosis), lo que afecta el metabolismo de fármacos.
- En el futuro, la genotipificación del perfil de P450 de pacientes (p. ej., para detectar polimorfismos) quizá permita la individualización de la farmacoterapia.

como ácido glucurónico, sulfato o glutatión. Esto los hace aún más hidrosolubles, y finalmente se excretan en la orina o la bilis.

Aquí se describen cinco tipos de reacciones de fase 2

Glucuronidación

La glucuronidación de la bilirrubina se comenta en el capítulo 31; las reacciones mediante las cuales los xenobióticos se glucuronidan son en esencia similares. El ácido UDP glucurónico es el donador de glucuronil, y diversas glucuronosiltransferasas, presentes tanto en el retículo endoplásmico como en el citosol, son los catalíticos. Las moléculas como el 2-acetilaminofluoreno (un carcinógeno), anilina, ácido benzoico, meprobamato (un tranquilizante), fenol y muchos esteroides, se excretan como glucurónidos. El glucurónido puede estar fijo a oxígeno, nitrógeno o grupos azufre de los sustratos. La glucuronidación probablemente es la reacción de conjugación más frecuente.

Sulfación

Algunos alcoholes, arilaminas y fenoles son sulfatados. El **donador de sulfato** en estas reacciones de sulfación biológicas y otras (p. ej., sulfación de esteroides, glucosaminoglucanos, glucolípidos y glucoproteínas) es el **adenosina 3′-fosfato-5′-fosfosulfato** (**PAPS**) (cap. 24); este compuesto se llama “sulfato activo”.

Conjugación con glutatión

El glutatión (γ-glutamil-cisteinilglicina) es un **tripéptido** que consta de ácido glutámico, cisteína y glicina (figura 3-3). El glutatión suele abreviarse GSH (debido al grupo sulfhidrilo de su cisteína, que es la parte importante de la molécula). Varios xenobióticos electrofílicos en potencia tóxicos (como ciertos carcinógenos) se conjugan hacia el GSH nucleofílico en reacciones que pueden representarse como sigue:

$$\mathrm{R + GSH \rightarrow R — S — G}$$

Donde R = un xenobiótico electrofílico. Las enzimas que catalizan estas reacciones se llaman **glutatión *S*-transferasas** y están presentes en cantidades altas en el citosol hepático, y en cantidades más bajas en otros tejidos. Varias glutatión *S*-transferasas están presentes en el tejido humano. Muestran diferentes especificidades de sustrato, y pueden separarse mediante técnicas electroforéticas y de otros tipos. Si los xenobióticos en potencia tóxicos no se conjugaran hacia GSH, estarían libres para combinarse de manera covalente con DNA, RNA, o proteína celular y, así, podrían llevar a serio daño celular. Por ende, el GSH es un importante **mecanismo de defensa** contra ciertos compuestos tóxicos, como algunos fármacos y carcinógenos. Si **se disminuyen** las concentraciones de GSH en un tejido como el hígado (como puede lograrse mediante la administración a ratas de ciertos compuestos que reaccionan con el GSH), puede mostrarse que ese tejido es más susceptible a lesión por diversas sustancias químicas que en circunstancias normales se conjugarían con GSH. Los conjugados de glutatión quedan sujetos a **metabolismo adicional** antes de excreción. Los grupos glutamil y glicinil que pertenecen al glutatión se eliminan mediante enzimas específicas, y un grupo acetilo (donado por la acetil-CoA) se añade al grupo amino de la porción cisteinil restante. El compuesto resultante es un **ácido mercaptúrico**, un conjugado de L-acetilcisteína, que después se excreta en la orina.

El glutatión tiene otras funciones importantes en células del ser humano, además de su función en el metabolismo de xenobióticos.

1. Participa en la descomposición de **peróxido de hidrógeno** en potencia tóxico en la reacción catalizada por glutatión peroxidasa (cap. 21).
2. Es un importante **reductor intracelular y antioxidante**, que ayuda a mantener grupos SH esenciales de enzimas en su estado reducido. Esta función se comenta en el capítulo 21, y su participación en la anemia hemolítica causada por deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa se comenta en los capítulos 21 y 52.
3. Un ciclo metabólico que comprende GSH como un acarreador ha quedado implicado en el **transporte de ciertos aminoácidos** a través de membranas en los riñones. A continuación se muestra la primera reacción del ciclo.

$$\text{Aminoácido} + \text{GSH} \rightarrow \gamma\text{-glutamil aminoácido} + \text{cisteinilglicina}$$

Esta reacción ayuda a transferir ciertos aminoácidos a través de la membrana plasmática; el aminoácido después se hidroliza desde su complejo con GSH, y el GSH se vuelve a sintetizar a partir de cisteinilglicina. La enzima que cataliza la reacción anterior es la **γ-glutamiltransferasa** (**GGT**); está presente en la membrana plasmática de células de los túbulos renales y células de conductillos biliares, y en el retículo endoplásmico de hepatocitos. La enzima tiene valor diagnóstico porque se libera hacia la sangre desde células hepáticas en **diversas enfermedades hepatobiliares**.

Otras reacciones

Las otras dos reacciones más importantes son acetilación y metilación.

1. **Acetilación:** está representada por:

$$X + \text{Acetil-CoA} \rightarrow \text{Acetil-X} + \text{CoA}$$

donde X representa un xenobiótico. Al igual que para otras reacciones de acetilación, la **acetil-CoA** (acetato activo) es el donador de acetilo. Estas reacciones son catalizadas por **acetiltransferasas** presentes en el citosol de varios tejidos, en particular el hígado. El fármaco **isoniazida**, que se usa en el tratamiento de tuberculosis, queda sujeto a acetilación. Hay **tipos polimórficos** de acetiltransferasas, lo que da por resultado individuos que se clasifican como **acetiladores lentos o rápidos**, e influyen sobre el índice de depuración de fármacos como isoniazida desde la sangre. Los acetiladores lentos están más sujetos a ciertos efectos tóxicos de la isoniazida porque el fármaco persiste durante más tiempo en estos individuos.

2. **Metilación:** algunos xenobióticos quedan sujetos a metilación por metiltransferasas, empleando *S*-adenosilmetionina (figura 29-18) como el donador de metilo.

LA EDAD, EL SEXO Y OTROS FACTORES AFECTAN LAS ACTIVIDADES DE ENZIMAS QUE METABOLIZAN XENOBIÓTICOS

Diversos factores influyen sobre las actividades de las enzimas que metabolizan xenobióticos. Las actividades de estas enzimas pueden diferir considerablemente entre **especies**; de este modo, por ejemplo, la posible **toxicidad** o **carcinogenicidad** de xenobióticos no se puede extrapolar libremente desde una especie hacia otra. Hay diferencias importantes de las actividades de enzimas entre los individuos, muchas de las cuales parecen deberse a **factores genéticos**. Las actividades de estas enzimas varían de acuerdo con la **edad** y el **sexo**.

La ingestión de diversos xenobióticos, como el fenobarbital, PCB, o ciertos hidrocarburos, puede causar **inducción de enzima**. De este modo, al evaluar respuestas bioquímicas a xenobióticos es importante saber si un individuo ha quedado expuesto o no a estos agentes inductores. (Cuando se obtiene una historia clínica siempre tiene importancia que el interrogatorio incluya preguntas respecto a si el paciente ha estado tomando algún fármaco u otras preparaciones terapéuticas.) Los metabolitos de ciertos xenobióticos pueden **inhibir** o **estimular** las actividades de enzimas que metabolizan xenobióticos. De nuevo, esto puede influir sobre las dosis de ciertos fármacos que se administran a pacientes. Diversas **enfermedades** (p. ej., cirrosis del hígado) pueden afectar las actividades de enzimas que metabolizan fármacos, lo que a veces exige ajuste de las dosificaciones de diversos fármacos para pacientes que tienen estos trastornos.

LAS RESPUESTAS A XENOBIÓTICOS INCLUYEN EFECTOS FARMACOLÓGICOS, TÓXICOS, INMUNITARIOS Y CARCINOGÉNICOS

Los xenobióticos se metabolizan en el cuerpo mediante las reacciones descritas. Cuando el xenobiótico es un fármaco, las reacciones de fase 1 pueden producir su forma activa o disminuir o terminar su acción si es activo desde el punto de vista farmacológico en el cuerpo sin metabolismo previo. Los diversos efectos producidos por fármacos comprenden el área de estudio de la farmacología; aquí es importante apreciar que los fármacos actúan principalmente por medio de mecanismos bioquímicos. En el **cuadro 53-2** se resumen cuatro reacciones importantes a fármacos, que reflejan **diferencias determinadas por mecanismos genéticos** de la estructura de enzima y proteína entre individuos —parte del campo de estudio conocido como **farmacogenética**—. Esta área de la ciencia se ha definido como **el estudio de la contribución de factores genéticos a la variación en la respuesta a fármacos y la toxicidad**.

Los **polimorfismos** que afectan el metabolismo de fármacos pueden ocurrir en cualquiera de las **enzimas** que participan en el metabolismo de fármacos (incluso citocromos P450), en **transportadores** y en **receptores**.

Ciertos xenobióticos son muy tóxicos incluso a concentraciones bajas (p. ej., cianuro). Por otro lado, algunos xenobióticos, entre ellos fármacos, no ejercen algunos efectos tóxicos si se administran en cantidades suficientes. Los **efectos tóxicos de**

CUADRO 53–2 Algunas reacciones farmacológicas importantes debidas a formas mutantes o polimórficas de enzimas o proteínas[1]

Enzima o proteína afectada	Reacción o consecuencia
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) (mutaciones) (OMIM 305900)	Anemia hemolítica después de la ingestión de fármacos como primaquina
Canal de liberación de Ca^{2+} (receptor de rianodina) en el retículo sarcoplásmico (mutaciones) (OMIM 180901)	Hipertermia maligna (OMIM 145600) después de la administración de ciertos anestésicos (p. ej., halotano)
CYP2D6 (polimorfismos) (OMIM 124030)	Metabolismo lento de ciertos fármacos (p. ej., debrisoquina), lo que provoca su acumulación
CYP2A6 (polimorfismos) (OMIM 122720)	Metabolismo alterado de nicotina, que da por resultado protección contra hacerse un fumador dependiente de tabaco

[1] La deficiencia de G6PD se comenta en los capítulos 21 y 52, y la hipertermia maligna, en el capítulo 49. Al menos un gen que no es el que codifica para el receptor de rianodina, participa en ciertos casos de hipertensión maligna. Se dispone de muchos otros ejemplos de reacciones farmacológicas basadas en polimorfismo o mutación.

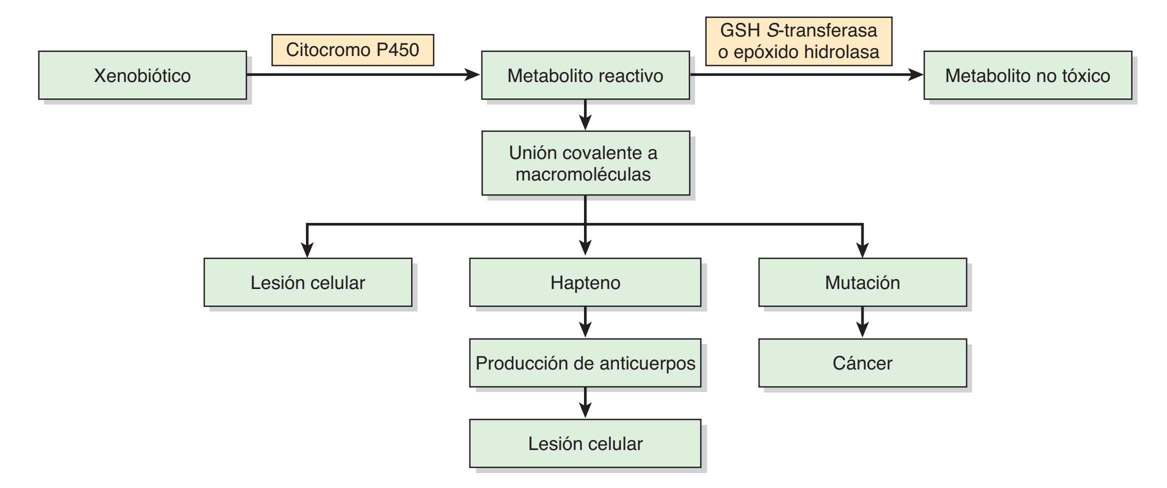


FIGURA 53–1 **Esquema simplificado que muestra cómo el metabolismo de un xenobiótico puede dar por resultado lesión celular, daño inmunitario o cáncer.** En este caso, la conversión del xenobiótico en un metabolito reactivo es catalizada por un citocromo P450, y la conversión del metabolito reactivo (p. ej., un epóxido) en un metabolito no tóxico es catalizada por una GSH *S*-transferasa o por epóxido hidrolasa.

los xenobióticos cubren un amplio espectro, pero los principales efectos pueden considerarse en tres encabezados generales (**figura 53-1**).

El primero es **lesión celular** (citotoxicidad), que puede ser suficientemente grave como para originar muerte celular. Hay muchos mecanismos mediante los cuales los xenobióticos lesionan células. El que se considera aquí es la **unión covalente a macromoléculas celulares** de especies reactivas de xenobióticos producidas por el metabolismo; estos blancos macromoleculares comprenden **DNA**, **RNA** y **proteína**. Si la macromolécula a la cual el xenobiótico reactivo se une es esencial para la supervivencia celular a corto plazo, por ejemplo, una proteína o enzima involucrada en alguna función celular crucial, como la fosforilación oxidativa o la regulación de la permeabilidad de la membrana plasmática, efectos graves sobre la función celular podrían hacerse evidentes con bastante rapidez.

En segundo lugar, la especie reactiva de un xenobiótico puede unirse a una proteína, y alterar su **antigenicidad**. Se dice que el xenobiótico actúa como un **hapteno**, esto es, una molécula pequeña que por sí misma no estimula la síntesis de anticuerpos, pero que se combinará con anticuerpo una vez formados. Los **anticuerpos** resultantes entonces pueden dañar a la célula por medio de varios mecanismos inmunitarios que a grandes rasgos perturban procesos bioquímicos celulares normales.

En tercer lugar, se cree que las reacciones de especies activadas de carcinógenos químicos con **DNA** tienen gran importancia en la **carcinogénesis química**. Algunas sustancias químicas (p. ej., benzo[α]pireno) requieren activación por monooxigenasas en el retículo endoplásmico para hacerse carcinogénicas (de este modo, se llaman **carcinógenos indirectos**). Así, las actividades de las monooxigenasas y de otras enzimas que metabolizan xenobióticos presentes en el retículo endoplásmico, ayudan a determinar si esos compuestos se hacen carcinogénicos o se "destoxifican". Otras sustancias químicas (p. ej., diversos agentes alquilantes) pueden reaccionar de manera directa (carcinógenos directos) con DNA sin pasar por activación química intracelular.

La enzima **epóxido hidrolasa** despierta interés porque puede ejercer un efecto protector contra ciertos carcinógenos. Los productos de la acción de ciertas monooxigenasas sobre algunos sustratos procarcinógenos son **epóxidos**. Estos últimos son muy reactivos y mutagénicos o carcinogénicos o ambos. La epóxido hidrolasa —al igual que el citocromo P450, también presente en las membranas del retículo endoplásmico— actúa sobre estos compuestos, y los convierte en dihidrodioles mucho menos reactivos. La reacción catalizada por la epóxido hidrolasa puede representarse como sigue:

$$-\overset{|}{C}-\overset{|}{C}-\ (\text{puente } O) + H_2O \longrightarrow -\overset{|}{\underset{HO}{C}}-\overset{|}{\underset{OH}{C}}-$$

Epóxido **Dihidrodiol**

LA FARMACOGENÓMICA IMPULSARÁ LA CREACIÓN DE FÁRMACOS NUEVOS Y MÁS SEGUROS

Como se indicó, la **farmacogenética** es **el estudio de la contribución de los factores genéticos a la variación de la respuesta a fármacos y la toxicidad**. Como resultado del progreso hecho en la secuenciación del genoma humano, a últimas fechas se ha creado un nuevo campo de estudio: la **farmacogenómica**. Se ha definido como **el uso de información y tecnologías genómicas para optimizar el descubrimiento y el desarrollo de blancos farmacológicos y fármacos**. Se fundamenta en la farmacogenética, pero cubre una esfera de actividad más amplia. La información proveniente de la genómica, proteómica, bioinformática y otras disciplinas como la bioquímica y la toxicología se integrarán para hacer posible la síntesis de fármacos más nuevos y más seguros. A medida que se determinen las secuencias de todos los genes del ser humano y sus proteínas codificadas, esto revelará muchos nuevos **blancos para acciones farmacológicas**. También revelará **polimorfismos** (este término se comenta brevemente en el cap. 50) de enzimas y proteínas **rela-**

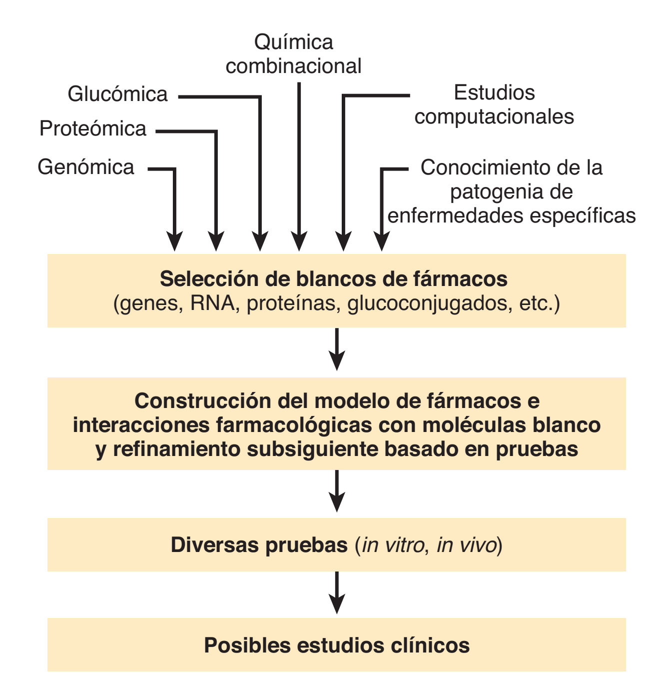


FIGURA 53–2 **Esquema simplificado de algunos métodos para la creación de nuevos fármacos.**

cionadas con el metabolismo, **la acción y la toxicidad de fármacos**. Se construirán microarreglos capaces de detectarlos, lo que permitirá **investigar a individuos** respecto a polimorfismos en potencia perjudiciales antes del inicio de farmacoterapia. Ya se dispone de **chips de gen** para analizar ciertos genotipos de P450 (p. ej., para CYP2D6, cuyo producto de gen participa en el metabolismo de muchos antidepresivos, antipsicóticos, β-bloqueadores y algunos quimioterápicos). En la **figura 53-2** se resumen algunos métodos para crear nuevos fármacos. Las ideas clave importantes del desarrollo de nuevos fármacos son **mejorar el tratamiento** y **proporcionar fármacos personalizados más seguros**, tomando en cuenta polimorfismos y otros factores **genéticos** y **ambientales**. Se ha estimado que cada año, tan sólo en Estados Unidos, ocurren alrededor de 100 000 muertes por reacciones adversas a fármacos. Se espera que la nueva información proporcionada por estudios en las diversas áreas que se indican en la figura 53-2, y en otras áreas se traduzca en terapias exitosas y **a la postre** también en una nueva era de terapéutica personalizada. Sin embargo, queda mucho trabajo por hacer antes de que esto sea alcanzable.

RESUMEN

- Los xenobióticos son compuestos químicos extraños al cuerpo, como fármacos, aditivos de alimentos, y contaminantes ambientales; se han identificado más de 200 000.
- Los xenobióticos se metabolizan en dos fases. La principal reacción de la fase 1 es la hidroxilación catalizada por diversas monooxigenasas, también conocidas como los citocromos P450. En la fase 2, las especies hidroxiladas se conjugan con diversos compuestos hidrofílicos, como ácido glucurónico, sulfato o glutatión. La operación combinada de estas dos fases convierte los compuestos lipofílicos en compuestos hidrosolubles que se pueden eliminar del cuerpo.
- Los citocromos P450 catalizan reacciones que introducen un átomo de oxígeno derivado de oxígeno molecular hacia el sustrato, lo que da un producto hidroxilado. El NADPH y la NADPH-citocromo P450 reductasa participan en el complejo mecanismo de reacción.
- Todos los citocromos P450 son hemoproteínas y por lo general tienen una especificidad de sustrato amplia; actúan sobre muchos sustratos exógenos y endógenos. Representan el biocatalítico más versátil conocido.
- En el tejido humano hay alrededor de 57 genes que codifican para citocromo P450.
- Los citocromos P450 por lo general están localizados en el retículo endoplásmico de las células, y están en particular enriquecidos en el hígado.
- Muchos citocromos P450 son inducibles. Esto tiene inferencias importantes en fenómenos como la interacción farmacológica.
- También hay citocromos P450 mitocondriales, y participan en la biosíntesis de colesterol y esteroides. Usan una proteína con azufre que contiene hierro no hem, adrenodoxina, no requerida por isoformas microsómicas.
- Los citocromos P450, debido a sus actividades catalíticas, desempeñan funciones importantes en las reacciones de células a compuestos químicos y en la carcinogénesis química.
- Las reacciones de fase 2 son catalizadas por enzimas como glucuronosiltransferasas, sulfotransferasas y glutatión *S*-transferasas, usando ácido UDP-glucurónico, PAPS (sulfato activo) y glutatión, respectivamente, como donadores.
- El glutatión no sólo desempeña una función importante en las reacciones de fase 2, sino que también es un agente reductor intracelular, y participa en el transporte de ciertos aminoácidos hacia las células.
- Los xenobióticos pueden producir diversos efectos biológicos, entre ellos respuestas farmacológicas, toxicidad, reacciones inmunitarias y cáncer.
- Catalizado por el progreso logrado en la secuenciación del genoma humano, el nuevo campo de la farmacogenómica promete poner a disposición muchísimos fármacos nuevos, diseñados de manera racional y más seguros.

REFERENCIAS

Caskey CT: Using genetic diagnosis to determine individual therapeutic utility. Annu Rev Med 2010;61:1.

Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee. http://www.imm.ki.se/CYPalleles/

Ingelman-Sundberg M: Pharmacogenomic biomarkers for prediction of severe adverse drug reactions. N Engl J Med 2008;358:637.

Kalant H, Grant DM, Mitchell J (editors): *Principles of Medical Pharmacology,* 7th ed. Saunders Elsevier, 2007. (Los capítulos 4 [Biotransformación farmacológica, de Riddick DS] y 10 [Farmacogenética y farmacogenómica, por Grant DM y Kalow W] son particularmente relevantes para este capítulo.)

Kamali F, Wynne H: Pharamacogenetics of Warfarin. Annu Rev Med 2010;61:63.

Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ (editors): *Basic & Clinical Pharmacology,* 11th ed. McGraw-Hill, 2009.

Lee C, Morton CC: Structural genomic variation and personalized medicine. N Engl J Med 2008;358:740.

Pharmacogenomics. Human Genome Project Information. http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/medicine.pharma.shtml

Shurin SB, Nabel EG: Pharmacogenomics—ready for prime time? N Engl J Med 2008:358:1061.

CAPÍTULO

54

La bioquímica del envejecimiento

Peter J. Kennelly, PhD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Describir las características esenciales de las teorías de desgaste, del envejecimiento.
- Listar al menos cuatro factores ambientales comunes que se sabe que dañan macromoléculas biológicas, como proteínas y DNA.
- Describir por qué las bases de nucleótido son en especial vulnerables a daño.
- Explicar la diferencia más importante desde el punto de vista fisiológico entre los genomas mitocondrial y nuclear.
- Comprender la teoría oxidativa del envejecimiento y listar las fuentes primarias de especies de oxígeno reactivas (ROS) en seres humanos.
- Listar tres mecanismos mediante los cuales las células evitan daño infligido por ROS, o lo reparan.
- Entender los principios básicos de las teorías metabólicas del envejecimiento.
- Definir el mecanismo del "reloj de cuenta regresiva" del telómero.
- Describir el entendimiento actual de la contribución genética al envejecimiento.
- Explicar las implicaciones evolutivas de un lapso de vida codificado genéticamente.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Considérense las diversas etapas en la vida del *Homo sapiens*. La lactancia y la niñez se caracterizan por crecimiento continuo en estatura y masa corporal. Se desarrollan habilidades motoras e intelectuales básicas: ambulación, lenguaje, etc. La lactancia y la niñez también representan un periodo de vulnerabilidad en el cual un joven depende de adultos para obtener agua, alimento, refugio, protección e instrucción. La adolescencia atestigua un brote final de crecimiento en la estructura esquelética del cuerpo. Lo que es más importante, ocurre una serie de notorios cambios vinculados con el desarrollo —una acumulación de masa muscular, pérdida de la "grasa de bebé" residual, maduración de las gónadas y del tejido cerebral, y la aparición de las características sexuales secundarias— que transforman al niño dependiente en un adulto fuerte, independiente y con capacidad reproductiva. La adultez, la etapa más prolongada, es un periodo carente de crecimiento físico, o de cambio vinculado con el desarrollo, notorio. Con la notable excepción del embarazo en mujeres, con cierta frecuencia los adultos mantienen el mismo peso corporal, el aspecto general y la magnitud general de actividad durante dos o tres décadas.

Salvo en presencia de enfermedad o lesión mortal, el inicio de la etapa final de la vida, la vejez, es señalado por un resurgimiento de cambio físico y fisiológico. El pelo empieza a adelgazarse notablemente, y se torna de color blanco o gris conforme pierde su pigmentación. La piel pierde su elasticidad y acumula defectos. Los individuos parecen disminuir de tamaño, y hay pérdida progresiva de la masa tanto muscular como ósea. El lapso de atención y la capacidad de tener recuerdos declinan. Finalmente, de manera inevitable, la vida misma llega a su fin a medida que una o más funciones corporales esenciales dejan de operar.

El entendimiento de las causas subyacentes y de los desencadenantes del envejecimiento y los cambios que lo acompañan tiene gran importancia biomédica. Los síndromes de Hutchison-Gilford, Werner y Down son tres enfermedades genéticas de seres humanos cuya patología comprende aceleración de muchos de los eventos fisiológicos asociados con el envejecimiento. La lentificación o el cese de algunos de los procesos degenerativos que causan el envejecimiento o lo acompañan pueden hacer que la última etapa de la vida sea mucho más vital, productiva y plena. El dominio de los factores de los cuales depende el desencadenamiento de la muerte celular tal vez permita a los médicos

CUADRO 54–1 Esperanza de vida promedio por década, Estados Unidos

Periodo muestra	Esperanza de vida promedio (años) Desde el nacimiento	Si sobrevivió hasta los 5 años de edad
1900–1902	49.24	59.98
1909–1911	51.49	61.21
1919–1921	56.40	62.99
1929–1931	59.20	64.29
1939–1941	63.62	67.49
1949–1951	68.07	70.54
1959–1961	69.89	72.04
1969–1971	70.75	72.43
1979–1981	73.88	75.00
1989–1991	75.37	76.22
1999–2001	76.83	77.47

Adaptado de Tabla 12 del *National Vital Statistics Reports* (2008) 57, vol. 1.

destruir de manera selectiva tejidos y células perjudiciales como tumores, pólipos y quistes sin daño colateral a tejidos sanos.

LAPSO DE VIDA EN CONTRAPOSICIÓN CON LONGEVIDAD

Desde la época Paleolítica, pasando por la edad de oro de Grecia, hasta la era Medieval, la esperanza de vida promedio para un recién nacido permaneció relativamente constante; osciló dentro del rango de 25 a 35 años. A partir del Renacimiento, este número ha aumentado de manera gradual, de modo que para el principio del siglo XX la esperanza de vida promedio de personas nacidas en países en desarrollo alcanzó alrededor de 45 años. Hoy, 100 años más tarde, el promedio mundial es de 67 años, y para naciones desarrolladas se está aproximando a 80. Esto ha llevado a especulación en la prensa popular acerca de cuánto tiempo podría esperarse que esta tendencia continúe. ¿Las generaciones futuras pueden esperar vivir más allá de la marca de un siglo? ¿Es posible que los seres humanos posean el potencial, salvo en presencia de accidentes y con cuidado y mantenimiento apropiados, de vivir por tiempo indefinido?

Lamentablemente, es poco probable que esta extrapolación se haga realidad porque se basa en un malentendido del término **esperanza de vida**. Ésta se calcula al promediar todos los nacimientos. Por ende, está influida de manera notoria por las tasas de mortalidad de lactantes. Mientras que la esperanza de vida de un niño romano era de 25 años, si se calcula el lapso de vida esperado sólo para las personas que sobrevivieron a la lactancia, que se denominará **longevidad**, el promedio casi se duplicó a 48. Cuando se elimina del cálculo la declinación notoria de las tasas de mortalidad de lactantes que ha tenido lugar durante el siglo y medio pasados, la duplicación aparente del lapso de vida queda casi anulada, *más no por completo*. Como puede observarse en el **cuadro 54-1**, la longevidad predicha de un niño de cinco años de edad en Estados Unidos ha aumentado desde 70.5 en 1950 hasta 77.5 años en 2000. ¿Hay alguna clase de límite superior para el lapso de vida de un ser humano bien mantenido, nutrido de manera apropiada? Tal vez no.

ENVEJECIMIENTO Y MORTALIDAD: ¿PROCESOS INESPECÍFICOS O PROGRAMADOS?

¿El envejecimiento y la muerte son procesos no determinantes o **estocásticos** en los cuales las criaturas vivas inevitablemente alcanzan un momento crítico en el cual sucumben a una acumulación de daño por enfermedad, lesión y el simple desgaste, durante toda una vida? Si bien el organismo humano tiene cierta capacidad para reparar y reemplazar en los ámbitos molecular y celular, esta capacidad es variable y finita. Independientemente de qué tanta atención se dedique al cuidado y el mantenimiento, como un automóvil o algún otro dispositivo mecánico sofisticado, tarde o temprano algún componente clave del cuerpo del ser humano se desgastará. Una corriente de opinión alternativa plantea que el envejecimiento y la muerte son procesos programados genéticamente, análogos a la pubertad, que han evolucionado por medio de un proceso de selección natural.

Lo más probable es que el envejecimiento y la muerte sean procesos multifactoriales a los cuales muchos factores, algunos no determinantes y otros programados, hacen contribuciones importantes. Si bien queda mucha investigación por hacer antes de que sea posible determinar la conformación precisa de este mosaico mecanístico, se ha identificado un rango grande de contribuidores potenciales. Varios de los más prominentes de éstos se presentan en las secciones que siguen.

TEORÍAS DE DESGASTE Y DEL ENVEJECIMIENTO

Muchas teorías respecto al envejecimiento y la mortalidad plantean la hipótesis de que el cuerpo humano finalmente sucumbe a la acumulación de daño con el tiempo debido a diversos factores ambientales que son reactivos con biomoléculas orgánicas. Estas teorías notan que si bien hay mecanismos de reparación y recambio para restituir o remplazar muchas clases de moléculas dañadas, estos mecanismos no son absolutamente perfectos. En consecuencia, cierto daño se filtra, daño que inevitablemente se acumulará con el tiempo, particularmente en poblaciones de células de vida prolongada que experimentan poco recambio, si es que lo experimentan (**cuadro 54-2**). Irónicamente, muchos de los agentes que son más perjudiciales para las proteínas, el DNA y otras biomoléculas, también son esenciales para la vida terrestre: agua, oxígeno y luz solar.

Las reacciones hidrolíticas pueden dañar proteínas y nucleótidos

El agua es un nucleófilo relativamente débil. Sin embargo, debido a su presencia omnipresente y concentración alta (>55 M,

CUADRO 54–2 Tiempo requerido para que todas las células promedio de este tipo sean remplazadas

Tipo de tejido o célula	Recambio
Epitelio intestinal	34 h[1]
Epidermis	39 días[2]
Leucocito	<Un año[3]
Adipocitos	9.8 años[3]
Músculo esquelético intercostal	15.2 años[3]
Cardiomiocitos	≥100 años[3]

Datos tomados de:
[1] Potten CS, Kellett M, Rew DA, *et al.*: Proliferation in human gastrointestinal epithelium using bromodeoxyuridine *in vivo*. Gut 1992; 33:524.
[2] Weinstein GD, McCullough JL, Ross P: Cell proliferation in normal epidermis. J Invest Dermatol 1984; 82:623.
[3] Spalding KL, Arner E, Westermark PO, *et al.*: Dynamics of fat cell turnover in humans. Nature 2008; 453:783.

véase el capítulo 2), incluso este nucleófilo débil reaccionará con blancos susceptibles dentro de la célula. En proteínas, la hidrólisis de enlaces peptídicos lleva a división de la cadena polipeptídica. Los enlaces amida más frecuentemente establecidos como objetivo por el agua son los que se encuentran en las cadenas laterales de los aminoácidos asparagina y glutamina, probablemente porque están más expuestos, en promedio, a solvente que los enlaces amida en el esqueleto de la proteína. La hidrólisis lleva al remplazo del grupo amida neutro con un grupo carboxílico ácido, lo que forma aspartato y glutamato, respectivamente (**figura 54-1**, **partes A y B**). Este cambio lleva a la introducción tanto de una carga negativa como de un donador o receptor de protón potencial a la región afectada de la proteína. Dado que la población de proteína dentro de un organismo vivo está sujeta a recambio continuo, en la mayor parte de los casos la proteína químicamente modificada será degradada y remplazada por una proteína recién sintetizada.

Quizá tienen más consecuencias biológicas potenciales las reacciones de las bases nucleótido en el DNA con agua. Los grupos amino que se proyectan desde los anillos aromáticos heterocíclicos de las bases de nucleótido citosina, adenina y guanina son, cada uno, susceptibles a ataque hidrolítico en el cual el grupo amino queda remplazado por un carbonilo para formar uracilo, hipoxantina y xantina, respectivamente (**figura 54-1**, **parte C**). Si la base afectada está ubicada en el DNA de la célula, el resultado neto es una mutación que, si se deja sin reparar, puede perturbar en potencia la expresión génica o producir un producto de gen disfuncional. El enlace entre la base de nucleótido y la porción desoxirribosa en el DNA también es vulnerable a hidrólisis. En este caso la base es eliminada por completo, y deja una brecha en la secuencia (**figura 54-1**, **parte D**) que, si se deja sin reparar, puede llevar a una mutación por sustitución o por cambio de cuadro (cap. 37).

Muchos otros enlaces dentro de macromoléculas biológicas también poseen el potencial de ser divididos por hidrólisis química al azar. En esta lista se incluyen los enlaces éster que unen ácidos grasos a sus glicerolípidos cognados, los enlaces glucosídicos que enlazan las unidades monosacárido de carbohidratos, y los enlaces fosfodiéster que sostienen juntos polinucleótidos y

A
Asparagina → H_2O → Aspartato $+ NH_4^+$
B
Glutamina → H_2O → Glutamato $+ NH_4^+$
C
Citosina → H_2O → Uracilo $+ NH_4^+$
D
Adenina → H_2O → Sitio abásico

FIGURA 54–1 Ejemplos de daño hidrolítico de macromoléculas biológicas. Se muestran algunas de las maneras en las cuales el agua puede reaccionar con proteínas y DNA, y alterarlos químicamente: **A)** sustitución neta de ácido aspártico por medio de desaminación hidrolítica de la cadena lateral neutra de la asparagina. **B)** Sustitución neta de ácido glutámico por medio de desamidación hidrolítica de la cadena lateral neutra de la glutamina. **C)** Mutación neta de citosina a uracilo por agua. **D)** Formación de un sitio abásico en el DNA por medio de división hidrolítica de un enlace de base ribosa.

enlazan los grupos cabeza de fosfolípidos a sus parejas diacilglicerol. Empero, estas reacciones parecen tener lugar con demasiado poca frecuencia (hidrólisis de fosfodiéster) o generar productos insuficientemente perturbadores como para que manifiesten consecuencias biológicas importantes.

La respiración genera especies de oxígeno reactivas

Muchos procesos biológicos requieren de la oxidación (catalizada por enzima) de moléculas orgánicas por oxígeno molecular (O_2). Estos procesos incluyen la hidroxilación de cadenas laterales de prolina y lisina en el colágeno (cap. 5), la destoxificación de xenobióticos por el citocromo P450 (cap. 53), la degradación de nucleótidos de purina a ácido úrico (cap. 33), la reoxidación de los grupos prostéticos en las enzimas que contienen flavina que catalizan la descarboxilación oxidativa (p. ej., el complejo de piruvato deshidrogenasa, cap. 18) y otras reacciones redox (p. ej., aminoácido oxidasas, cap. 28), y la generación del gradiente quimiosmótico en mitocondrias por la cadena de transporte de electrones (cap. 13). Las enzimas redox a menudo emplean grupos prostéticos como nucleótidos de flavina, centros de hierro-azufre, o iones metálicos unidos a hem (caps. 12 y 13) para ayudar en la difícil tarea de generar el radical libre altamente reactivo e intermediarios oxianión formados durante la catálisis, y estabilizarlos. En la cadena de transporte de electrones se emplean transportadores especializados como la ubiquinona y los citocromos para transportar sin riesgos electrones únicos, no pareados, entre sus diversos complejos multiproteínicos y dentro de los mismos.

En ocasiones estos intermediarios altamente reactivos escapan hacia la célula en la forma de ROS como superóxido y peróxido de hidrógeno (**figura 54-2**, **parte A**). Debido a la virtud de su complejidad estructural y funcional, y flujo de electrones en extremo alto, el "escape" desde la cadena de transporte de electrones constituye con mucho la principal fuente de ROS en casi todas las células de mamífero. Además, muchas células de mamífero sintetizan y liberan el segundo mensajero óxido nítrico (NO), que contiene un electrón no pareado, para promover la vasodilatación y relajación muscular en el sistema cardiovascular (cap. 49).

Las especies de oxígeno reactivas son prolíficas desde el punto de vista químico

La reactividad en extremo alta de las ROS las hace en extremo peligrosas. Las ROS pueden reaccionar con casi cualquier compuesto orgánico, incluso proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, y alterarlo químicamente. En algunos casos, la reacción lleva a la división de enlaces covalentes. También muestran una fuerte tendencia a formar **aductos**, los productos de la adición de dos (o más) compuestos, con bases de nucleótido, ácidos grasos poliinsaturados, y otros compuestos biológicos que poseen múltiples dobles enlaces (**figura 54-3**). Los aductos formados con bases de nucleótido pueden ser en especial peligrosos debido a su potencial, si se dejan sin corregir, de causar lecturas erróneas que introducen mutaciones en el DNA.

La facilidad con la cual el oxígeno produce los cambios químicos que arrancian la mantequilla casera es un testimonio de la

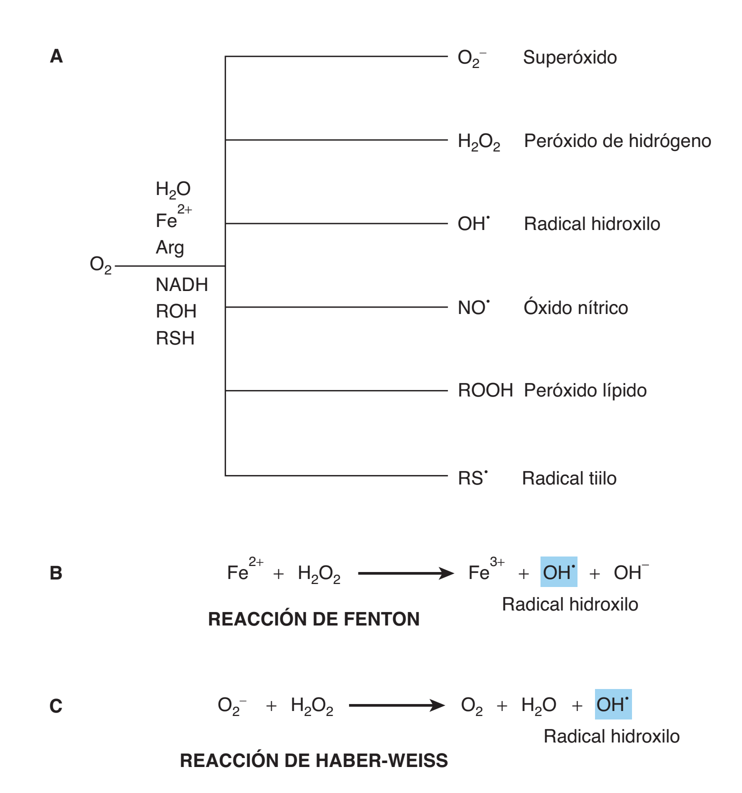


FIGURA 54–2 Las especies de oxígeno reactivas (ROS) son subproductos tóxicos de la vida en un ambiente aeróbico. **A)** Muchos tipos de ROS se encuentran en las células vivas. **B)** Generación de radical hidroxilo por medio de la reacción de Fenton. **C)** Generación de radical hidroxilo mediante la reacción de Haber-Weiss.

reactividad de grasas insaturadas, las que contienen uno o más dobles enlaces carbono-carbono (cap. 23) con ROS. La peroxidación lipídica puede llevar a la formación de aductos de lípido-lípido y lípido-proteína con enlaces covalentes, y una pérdida de la fluidez de la membrana y de la integridad de la misma. La pérdida de la integridad de la membrana, a su vez, puede —en el caso de las mitocondrias— socavar la eficiencia con la cual la cadena de transporte de electrones convierte equivalentes reductores en ATP, lo que lleva a más producción de ROS perjudiciales. La pérdida de la integridad de la membrana también puede desencadenar **apoptosis**, la muerte programada de una célula.

Reacciones en cadena multiplican la destructividad de ROS

La destructividad inherente en la reactividad alta de muchas de estas ROS, en particular radicales libres, es exacerbada por su capacidad para participar en reacciones en cadena en las cuales el producto de la reacción entre el radical libre y alguna biomolécula es una biomolécula dañada y otra especie que contiene un electrón no pareado altamente reactivo. La cadena terminará cuando un radical libre es capaz de adquirir otro electrón solitario para formar un par de electrones relativamente inocuo sin generar un nuevo electrón no pareado como un subproducto. Ése es el caso cuando un radical libre encuentra otro. Los dos electrones "impares" se combinan para formar un par. De manera alternativa, las ROS pueden quedar eliminadas mediante una

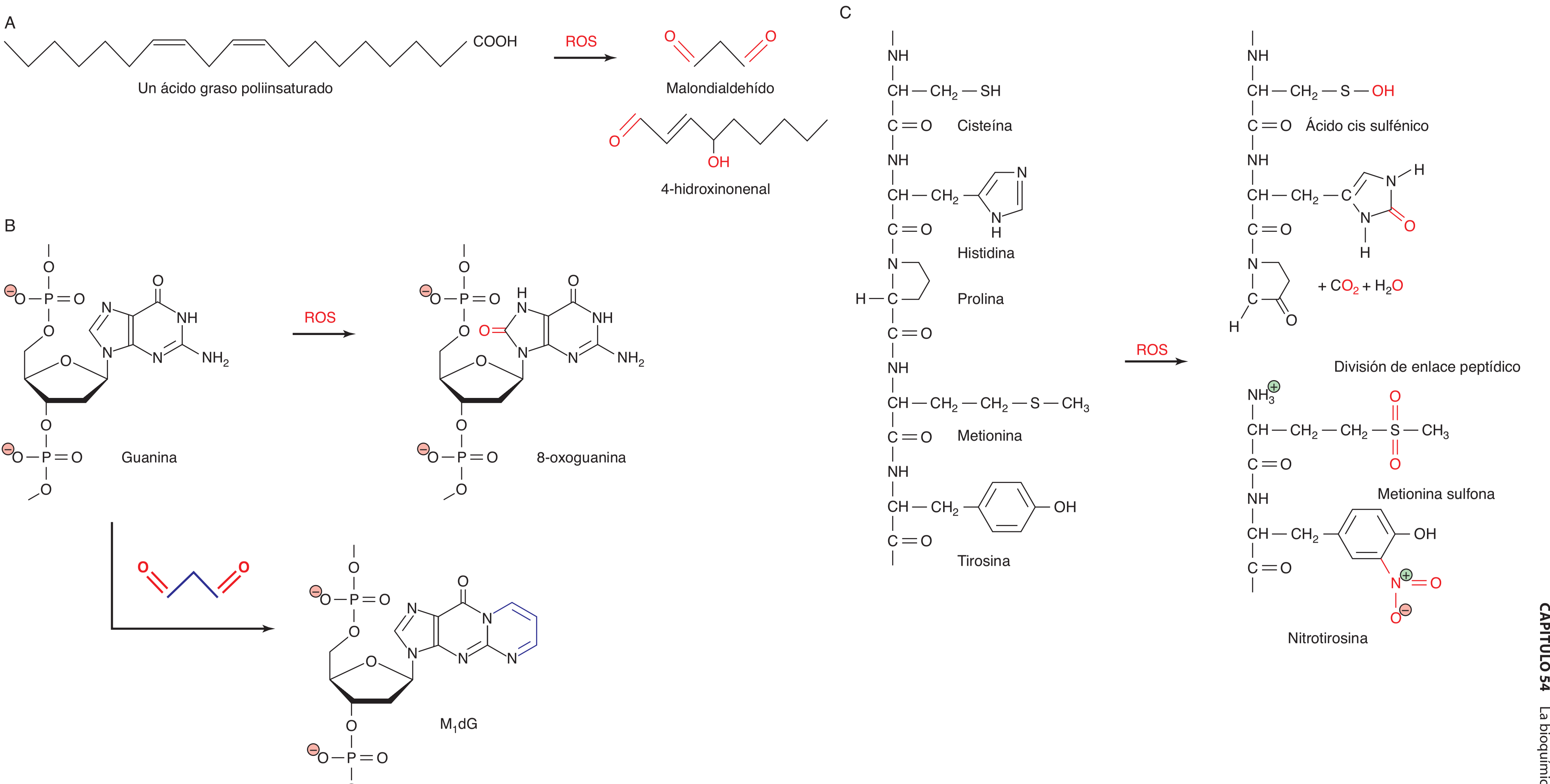


FIGURA 54–3 Las ROS reaccionan de manera directa e indirecta con una amplia gama de moléculas biológicas. A) La peroxidación de lípidos insaturados genera productos reactivos, como malondialdehído y 4-hidroxinonenal. **B)** La guanina puede ser oxidada de manera directa por ROS para producir 8-oxoguanina o formar un aducto, M_1dG, con el producto de ROS malondialdehído. **C)** Reacciones comunes de proteínas con ROS, incluso oxidación de cadenas laterales de aminoácidos y división de enlaces peptídicos. Los átomos de oxígeno derivados de ROS están marcados en rojo. Los átomos de carbono derivados del malondialdehído en M_1dG están coloreados de azul. El nombre químico completo del M_1dG es 3-(2-desoxi-D-*eritro*-pentofuranosil)pirimido(1,2-α)purina-10(*3H*)-ona.

del juego de enzimas antioxidantes dedicadas de la célula (caps. 12 y 52).

La reactividad, y por ende la destructividad, de ROS individuales varía. El peróxido de hidrógeno, por ejemplo, es menos reactivo que el superóxido, que a su vez es menos reactivo que el radical hidroxilo ($OH^{\bullet}$). Lamentablemente, existen dos vías en organismos vivos mediante las cuales el radical hidroxilo altamente tóxico puede generarse a partir de ROS menos destructivas. Por ejemplo, si hay hierro férrico presente, la reacción de Fenton puede transformar peróxido de hidrógeno en radicales hidroxilo (figura 54-2, parte B). A su vez, el hierro ferroso (+3) puede ser reducido de regreso al estado férrico (+2) por otras moléculas de peróxido de hidrógeno, lo que permite que el hierro actúe de manera catalítica para producir radicales hidroxilo adicionales. El radical hidroxilo también puede generarse cuando el superóxido y el peróxido de hidrógeno están desproporcionados, un proceso llamado la reacción de Haber-Weiss (figura 54-2, parte C).

Los radicales libres y la teoría mitocondrial del envejecimiento

En 1956, Denham Harmon propuso la llamada teoría de los radicales libres del envejecimiento. Se había reportado que la toxicidad del tratamiento con oxígeno hiperbárico y radiación podría explicarse por un factor común a ambos, la generación de ROS. Este reporte encajó muy bien con la observación propia de Harmon de que el lapso de vida estaba relacionado de manera inversa con el índice metabólico y, por extrapolación, con la respiración. Por ende, postuló que el daño acumulativo se origina por la producción continua e inevitable de ROS.

En años más recientes, los defensores de la teoría de los radicales libres del envejecimiento han enfocado la atención en las mitocondrias. La mitocondria no sólo es el huésped de la principal fuente de ROS en la célula, la cadena de transporte de electrones, sino que el daño oxidativo de los componentes de esta vía puede llevar a incremento del escape de peróxido de hidrógeno, superóxido, etc., hacia el citoplasma. El daño de las mitocondrias probablemente afectaría de modo adverso la eficiencia con la cual desempeña su función más importante, la síntesis de ATP. Una lentificación importante de la tasa de síntesis de ATP podría fácilmente llevar a los tipos de declinaciones a gran escala de la función fisiológica que ocurren en el envejecimiento.

Un segundo contribuidor al ciclo que se autoperpetúa de daño mitocondrial por redox es el hecho de que varios componentes de la cadena de transporte de electrones son codificados por el genoma propio de la mitocondria. El genoma mitocondrial es un remanente vestigial muy reducido del genoma de la bacteria antigua que fue el precursor del orgánulo actual. Por medio de un proceso llamado **endosimbiosis**, los eucariontes primitivos se hicieron dependientes de bacterias circundantes para que les proporcionaran ciertos materiales, y viceversa. Finalmente, la bacteria de menor tamaño fue absorbida por su huésped eucarionte y vivió en el interior del mismo. Con el tiempo casi todos los genes contenidos en el genoma bacteriano, pero no todos, fueron eliminados por ser superfluos para las necesidades del nuevo organismo de fusión, o fueron transferidos hacia el DNA nuclear de la célula huésped. En la actualidad, el genoma de la mitocondria del ser humano codifica para un RNA ribosómico pequeño y para uno grande, 22 tRNA, y subunidades polipeptídicas para los complejos I, III y IV de la cadena de transporte de electrones, así como para la F_1, F_0 ATPasa (**cuadro 54-3**). El genoma mitocondrial carece de los mecanismos de vigilancia y reparación que ayudan a mantener la integridad del DNA nuclear. En consecuencia, las mutaciones inducidas por aductos o la reacción con ROS, y cualesquiera defectos funcionales que se producen por estas mutaciones, se convierten en una característica permanente del genoma de la mitocondria de cada individuo, que seguirá acumulando mutaciones con el tiempo.

CUADRO 54–3 Genes codificados por el genoma de mitocondrias del ser humano

rRNA	rRNA 12S, 16S
tRNA	22 tRNA (2 para Leu y Ser)
Subunidades de NADH-ubiquinona oxidorreductasa (complejo I, > 40 en total)	ND 1 a 6, ND 4L
Subunidades de ubiquinol-citocromo c oxidorreductasa (complejo III, 11 en total)	Citocromo b
Subunidades de citocromo oxidasa (complejo IV, 13 en total)	COX I, COX II, COX III
Subunidades de la F_1, F_0 ATPasa (ATP sintasa, 12 en total)	ATPasa 6, ATPasa 8

Si bien ya no se considera que la hipótesis mitocondrial proporcione una explicación unificante para todos los cambios que se asocian con el envejecimiento del ser humano y sus comorbilidades, probablemente es un contribuidor de importancia. Evidencia circunstancial poderosa para esto es proporcionada por el papel fundamental desempeñado por este orgánulo en las vías de detector-respuesta que desencadenan la apoptosis.

Las mitocondrias son participantes clave en la apoptosis

La apoptosis otorga a organismos superiores la capacidad para eliminar de manera selectiva células que se hacen superfluas por cambios vinculados con el desarrollo, como los que tienen lugar de manera continua durante la embriogénesis, o que han quedado dañadas a un grado que hace imposible la reparación. Durante el remodelado de tejido vinculado con el desarrollo, el programa de muerte celular apoptótica es desencadenado por señales mediadas por receptor. En el caso de células dañadas, cualquiera de varios indicadores interiores puede servir como desencadenante: ROS, dsRNA viral, daño de DNA y choque por calor. Estas señales desencadenan la abertura del complejo de poro de transición de permeabilidad embebido en la membrana mitocondrial externa, a través del cual moléculas de la proteína transportadora de electrones pequeña (≈12.5 kDa) citocromo c escapa hacia el citoplasma. Aquí, el citocromo c sirve como la proteína central para nuclear un complejo multiproteínico, llamado apoptosoma, que inicia una cascada de eventos de activación proteolíticos dirigidos a las formas proenzima de una serie de cisteína proteasas conocidas como caspasas. Las caspasas terminales, números 3 y 7, desintegran proteínas estructurales en el citoplasma, y proteínas de la cromatina en el núcleo; estos even-

tos llevan a la muerte de la célula afectada y su eliminación mediante fagocitosis. No hace falta decir que la presencia de una vía de muerte celular mediada por receptor, intrínseca, ofrece la esperanza de que sea posible eliminar células perjudiciales, como cáncer, al aprender cómo activar de manera selectiva su vía apoptótica.

La radiación ultravioleta puede ser en extremo perjudicial

El término **radiación ultravioleta** (**UV**) se refiere a las longitudes de onda de luz que yacen inmediatamente más allá del extremo de longitud de onda azul o corta del espectro visible. Si bien el ojo del ser humano no puede detectar estas longitudes de onda de luz particulares, son fuertemente absorbidas por compuestos orgánicos que poseen anillos aromáticos, o múltiples dobles enlaces conjugados, como las bases de nucleótido del DNA y el RNA; las cadenas laterales aromáticas de los aminoácidos fenilalanina, tirosina y triptófano; ácidos grasos poliinsaturados; grupos hem, y cofactores y coenzimas, como flavinas, cianocobalamina, etc. La absorción de esta luz de longitud de onda corta, de alta energía, causa la rotura de enlaces covalentes en proteínas, DNA y RNA; la formación de dímeros de timina en el DNA (**figura 54-4**); la formación de enlaces covalentes de proteínas, y la generación de radicales libres, incluso de ROS. Si bien la radiación UV no penetra más allá de las primeras capas de las células cutáneas, la eficiencia alta de absorción lleva a la acumulación rápida de daño de la limitada población de células de la piel a las que llega. Dado que las bases de nucleótidos del DNA y el RNA son en particular eficientes para absorber la radiación UV, es altamente mutagénica. La exposición prolongada a la luz solar intensa puede llevar a la acumulación de múltiples lesiones de DNA que pueden abrumar la capacidad de reparación intrínseca de una célula. Así, es relativamente común que las personas cuyo trabajo o estilo de vida involucra exposición prolongada a la luz del sol manifiesten tejido cutáneo aberrante, en forma tanto de lunares como de melanomas cancerosos. Muchos de estos últimos pueden proliferar y diseminarse con gran rapidez, lo que requiere vigilancia cuidadosa e intervención médica rápida.

La glucación de proteína a menudo lleva a la formación de enlaces covalentes perjudiciales

Cuando aminoácidos como los que se encuentran en la cadena lateral de la lisina o en algunas de las bases de nucleótidos quedan expuestos a un azúcar reductor, como la glucosa, se genera lentamente un aducto reversible mediante la formación de una base de Schiff entre el grupo aldehído o cetona del azúcar y la amina. Con el tiempo, la proteína glucada pasa por una serie de reordenamientos para formar productos de **Amadori**, que contienen un doble enlace carbono-carbono conjugado que puede reaccionar con el grupo amino en una proteína vecina (**figura 54-5**). El resultado neto es la formación de un enlace covalente entre dos proteínas u otras macromoléculas biológicas que, a su vez, pasan por glucación adicional y se unen con enlaces covalentes incluso a otra macromolécula. Estos agregados unidos por enlaces covalentes a veces se llaman productos terminales de glucación avanzada o AGE.

Las repercusiones fisiológicas de la glucación de proteína pueden ser en especial pronunciadas cuando están involucradas

FIGURA 54–4 Formación de un dímero de timina después de excitación por luz UV. Cuando bases de timina consecutivas están apiladas en una doble hélice del DNA, la absorción de luz UV puede llevar a la formación de un anillo ciclobutano (de color rojo, no a escala) que enlaza de manera covalente las dos bases juntas para formar un dímero de timina.

FIGURA 54–5 La glucación de proteína puede llevar a la formación de enlaces covalentes proteína-proteína. Se muestra la secuencia de reacciones que genera el producto de Amadori sobre la superficie de la proteína marcada en color verde, y la formación subsiguiente de un enlace covalente proteína-proteína por medio de un grupo amino en la superficie de una segunda proteína, de color rojo.

proteínas de vida prolongada, como el colágeno o β-cristalinas. Su persistencia brinda la oportunidad de que ocurran múltiples eventos de glucación y de formación de enlaces covalentes. La formación de enlaces covalentes progresiva de la red de colágeno en las células endoteliales vasculares lleva a la pérdida progresiva de elasticidad y a engrosamiento de la membrana basal en vasos sanguíneos, lo que promueve la formación de placa. El resultado general es un incremento progresivo de la carga de trabajo del corazón. En el ojo, la acumulación de proteínas agregadas pone en peligro la transparencia del cristalino, y con el tiempo se manifiesta por sí misma en la forma de cataratas. El deterioro de la homeostasis de la glucosa hace a los diabéticos en especial susceptibles a la formación de productos terminales de glucación avanzada. De hecho, la glucación de la hemoglobina y de la albúmina sérica se usa como biomarcador para el diagnóstico de diabetes y la evaluación de su tratamiento.

MECANISMOS DE REPARACIÓN MOLECULARES COMBATEN EL DESGASTE

Mecanismos enzimáticos y químicos interceptan ROS perjudiciales

Un corolario para la teoría del desgaste, del envejecimiento, es que la longevidad refleja la eficacia y la robustez de los mecanismos de prevención, reparación y remplazo moleculares en una especie dada y los individuos dentro de ella. Enzimas como la superóxido dismutasa y la catalasa protegen a la célula al convertir superóxido y peróxido de hidrógeno, respectivamente, en productos menos reactivos, lo que previene daño molecular potencial (cap. 52). Por ejemplo, moscas de la fruta que han sido alteradas de manera genética para que expresen cifras altas de superóxido dismutasa muestran lapsos de vida significativamente extensos.

En el citoplasma, el tripéptido que contiene cisteína, glutatión, actúa como un protector redox químico al reaccionar de manera directa con ROS para generar compuestos menos reactivos, como agua. El glutatión oxidado, que consta de dos tripéptidos enlazados por un enlace S-S, a continuación es reducido mediante enzimas para mantener el fondo común de protector (cap. 52). El glutatión también puede reaccionar de manera directa con ácidos sulfénicos cisteína y disulfuros en proteínas para restituirlos a su estado reducido, y formar aductos con xenobióticos tóxicos (cap. 53). Otras biomoléculas, como el ácido ascórbico y la vitamina E, también poseen propiedades antioxidantes, lo cual explica el hecho de que muchas dietas “populares” se dirigen a alimentos ricos en estos compuestos en un esfuerzo por apoyar la capacidad del organismo para neutralizar ROS y lentificar el envejecimiento.

La integridad del DNA es mantenida mediante mecanismos de corrección de pruebas y reparación

Además de las medidas profilácticas antes mencionadas, los organismos vivos poseen una capacidad limitada para remplazar macromoléculas dañadas o repararlas. Casi toda esta capacidad se dirige a mantener la integridad del genoma nuclear (no así del

mitocondrial), lo cual es de esperarse dada la singular función del almacenamiento de información del DNA, la vulnerabilidad de las bases de nucleótidos aromáticas heterocíclicas a ataques por sustancias químicas y radiación UV, y el hecho de que —en contraste con casi cualquier otra macromolécula— cada célula contiene sólo una copia de cada cromosoma. Una **célula somática** es aquella que forma parte del cuerpo de un organismo. El mantenimiento de la integridad del genoma empieza en el momento de la replicación, donde se realiza corrección de pruebas cuidadosa a fin de asegurar que el nuevo genoma formado en el proceso de división de células somáticas replique fielmente la plantilla que dirigió su síntesis. Además, casi todos los organismos vivos poseen un impresionante conjunto de enzimas cuyo papel es inspeccionar y corregir aberraciones que escaparon a la corrección de pruebas o que se generaron después por la acción de agua (roturas bicatenarias, pérdida de una base de nucleótido, y desaminación de citosina), radiación UV (dímeros de timina y roturas de cadena), o exposición a modificadores químicos (formación de aducto). Este sistema de múltiples capas está compuesto de enzimas de reparación de errores de emparejamiento, enzimas de reparación por escisión de nucleótido, y enzimas de reparación por escisión de base, así como el sistema Ku para reparar roturas bicatenarias en el esqueleto de fosfodiéster (cap. 35). Como un último recurso, las células que albergan mutaciones perjudiciales quedan sujetas a eliminación mediante apoptosis.

Con todo, a pesar de las muchas precauciones que se toman para asegurar la fidelidad durante la replicación, y para reparar el daño subsiguiente antes listado, inevitablemente algunas mutaciones escapan a estos mecanismos. De hecho, se requiere de algo de escape del sistema de vigilancia y reparación para generar la variabilidad genética que impulsa la evolución. La **teoría de la mutación somática**, **del envejecimiento**, propone que también sirve para satisfacer un segundo propósito como un impulsor del proceso de envejecimiento. Expresado en palabras sencillas, la acumulación de células mutantes con el tiempo inevitablemente debe llevar a función biológica alterada que se manifiesta por sí misma, al menos en parte, como los cambios físicos que los seres humanos asocian con el envejecimiento.

Algunos tipos de daño de proteína pueden repararse

En contraste con el DNA, la capacidad de la célula para reparar daño de otras biomoléculas es relativamente limitada. En su mayor parte, las células parecen depender de recambio sistemático, en el cual la población global de una biomolécula dada es degradada y remplazada por síntesis nueva de manera continua, o constitutiva (cap. 9), para eliminar lípidos, carbohidratos y proteínas aberrantes. Algunas proteínas, en particular las proteínas fibrosas que contribuyen a la integridad estructural de tendones, ligamentos, huesos, matriz, etc., pasan por poco recambio, si es que pasan por alguno. Estas proteínas de vida prolongada tienden a acumular daño al cabo de muchos años, lo que contribuye a la pérdida de la elasticidad en tejidos vasculares y en articulaciones, la pérdida de la transparencia del cristalino, etc. Los mecanismos más prominentes para la reparación de proteínas dañadas establecen como objetivo los átomos de azufre contenidos en las cadenas laterales de cisteína y metionina, y los grupos isoaspartilo formados por el cambio del enlace peptídico a grupo carboxilo de cadena lateral.

El grupo sulfhidrilo de cadena lateral de la cisteína a menudo desempeña importantes papeles catalíticos, reguladores y estructurales en proteínas que dependen de su estado de oxidación. Aun así, tanto su grupo sulfhidrilo como el éter sulfúrico de la metionina son en extremo vulnerables a la oxidación (figura 54-3, parte C). Como sucede con muchas otras biomoléculas oxidadas, el tripéptido glutatión puede reaccionar de manera directa con cisteína-disulfuros, ácidos sulfénicos cisteína, y sulfóxido de metionina para regenerar cisteína y metionina, respectivamente. Además, las disulfuro reductasas y las metionina sulfóxido reductasas proporcionan un mecanismo de reducción catalizada por enzima en el que se usa NADPH como donador de electrones. Desafortunadamente, el potencial de reducción del glutatión y del NADPH sólo es suficiente para reducir los estados de oxidación más bajos de estos átomos de azufre: los cisteína disulfuros o ácidos sulfénicos y sulfóxido de metionina. El ácido sulfínico cisteína, el ácido sulfónico cisteína, y la metionina sulfona son resistentes a la reducción en condiciones fisiológicas.

Los residuos de ácido aspártico poseen las características geométricas precisas necesarias para permitir que el grupo carboxilo de cadena lateral reaccione con el grupo amino dentro del enlace peptídico formado con su grupo carboxilo α. La diamida cíclica resultante puede reabrirse entonces para formar el enlace peptídico original o un residuo isoaspartilo en el cual el carboxilo de cadena lateral ahora forma parte del esqueleto peptídico de la proteína (**figura 54-6**). La metilación del grupo carboxilo α proporciona un grupo saliente, que promueve la reformación de la diamida cíclica, que entonces puede reabrirse para formar el enlace peptídico normal (figura 54-6).

Las proteínas agregadas son muy resistentes a la degradación o reparación

Las modificaciones de la composición o la conformación de una proteína que hacen que se adhiera a otras moléculas de proteína pueden llevar a la formación de agregados tóxicos, llamados **amiloide**. Esos agregados son el dato característico de varias enfermedades neurodegenerativas, entre ellas la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Huntington, las ataxias espinocerebelosas, y las encefalopatías espongiformes transmisibles. Los efectos tóxicos de estos agregados insolubles son exacerbados por su persistencia, porque en este estado casi todos por lo general son resistentes a la acción catalítica de las proteasas que en circunstancias normales se encargan de su recambio.

ENVEJECIMIENTO COMO UN PROCESO PREPROGRAMADO

Si bien el desgaste molecular sin duda contribuye al envejecimiento, varias observaciones también sugieren un papel para mecanismos deterministas, programados. Por ejemplo, en lugar de "herrumbrarse" gradualmente, muchas de las manifestaciones físicas del envejecimiento —manchas hepáticas, encanecimiento, manos temblorosas, lagunas de memoria— por lo general se manifiestan en etapas tardías de la adultez, y progresan a un ritmo

FIGURA 54–6 La formación de un enlace isoaspartilo en un esqueleto polipeptídico y su reparación por medio de la intervención de la isoaspartil metiltransferasa. Se muestra la secuencia de reacciones químicas y catalizadas por enzimas que llevan a la formación de un enlace isoaspartilo y restauración de un enlace peptídico normal. Los carbonos que corresponden a los grupos de ácido carboxílico α y de cadena lateral en el ácido aspártico están coloreados de azul y verde, respectivamente. Las flechas rojas denotan las rutas de ataque nucleofílico durante las reacciones de ciclización e hidrólisis. El grupo metilo añadido a la isoaspartil metiltransferasa está coloreado de color rosado.

rápido, como si los mecanismos de mantenimiento molecular de los cuales dependen su reparación y remplazo repentinamente hubieran recibido una orden de dejar de operar. La menopausia femenina proporciona un claro ejemplo de un cambio fisiológico asociado con la edad que está genéticamente programado y controlado por mecanismos hormonales. En los párrafos que siguen se describen varias teorías actuales respecto a mecanismos deterministas, programados, para controlar el envejecimiento y la muerte.

Teorías metabólicas del envejecimiento: “mientras más brillante es la vela, más rápido se consume”

Una de las muchas variantes de la famosa cita atribuida al filósofo chino de la antigüedad Lao Tzu resume las características sobresalientes de las **teorías metabólicas del envejecimiento**. Sus orígenes pueden rastrearse a la observación de que los miembros de mayor tamaño del reino animal tienden a vivir más tiempo que los pequeños (**cuadro 54-4**). Al razonar que la base causal de esta correlación yace en algo conectado con el tamaño, más que el tamaño mismo, muchos científicos enfocaron su atención al órgano más cercanamente asociado con la vida y la vitalidad: el corazón. En general, la frecuencia cardiaca en reposo de animales pequeños, como los colibríes, de 250 latidos por minuto, tiende a ser más alta que la de animales grandes, como las ballenas, de 10 a 30 latidos por minuto. Los estimados del número acumulativo de veces que late el corazón de cada animal vertebrado en el transcurso de un lapso de vida mostraron una asombrosa convergencia en 1.0×10^9 latidos: mil millones.

La llamada **hipótesis del latido cardiaco** planteó que todo ser viviente es capaz de realizar sólo un número finito de latidos cardiacos, o de respiraciones, o de ambos. Una variación más matizada de esta idea básica, hizo referencia de manera variada a la **hipótesis metabólica** o **de la tasa de vida**, que fue propuesta por Raymond Pearl durante el decenio de 1920-1929. Pearl propuso que el lapso de vida de un individuo estaba enlazado de manera recíproca a su índice metabólico basal. En otras palabras, los que “prendieron la vela en ambos extremos”, por decirlo así, se consumieron más pronto. Una nueva ronda de cálculos reveló que, mientras que los animales difieren de manera notoria en tamaño, longevidad y frecuencia cardiaca, durante su lapso de vida cada uno gasta una cantidad similar de energía metabólica total por unidad de masa corporal, 7×10^5 J/g. Mientras que es intuitivamente atractivo, no se ha corroborado un enlace mecanístico entre el lapso de vida y el tamaño corporal y el gasto de energía o índice metabólico. Quienes se apegan a la teoría mitocondrial del envejecimiento sugieren que lo que se está “contando” no son latidos cardiacos o energía, sino las ROS que son el subproducto de la respiración. Con el tiempo la generación continua de energía y el consumo relacionado de O_2 lleva a la acumulación de daño de DNA, proteínas y lípidos inducido por ROS hasta que, finalmente, se alcanza un momento crítico. La lógica que está detrás de las dietas con restricción de calorías como un medio para prolongar la vida se basa en el razonamiento de que quemar menos calorías llevará a una reducción concomitante de la producción de ROS perjudiciales.

Telómeros: ¿un reloj de cuenta regresiva molecular?

Una segunda corriente de opinión sostiene que el reloj de cuenta regresiva putativo que controla el envejecimiento y el lapso de vida no detecta latidos cardiacos, energía o ROS; más bien, usa **telómeros** para llevar un registro del número de veces que cada célula somática se divide.

Los telómeros están compuestos de cuerdas largas de repeticiones de hexanucleótido ricas en GT que cubren los extremos de cromosomas eucariontes. A diferencia del DNA circular cerrado de genomas bacterianos, el DNA genómico de eucariontes es lineal. Si se dejan sin protección, los extremos expuestos de estos polinucleótidos lineales estarían disponibles para participar en eventos de recombinación genética en potencia carcinogénicos. Una segunda función de los telómeros es proporcionar algo de DNA desechable para adaptarse al desperdicio que ocurre cuando las moléculas de DNA lineal se replican.

Este desperdicio es una consecuencia del hecho de que todas las DNA polimerasas funcionan de manera unidireccional,

CUADRO 54–4 Lapso de vida en contraposición con masa corporal para varios mamíferos

Especie	Masa aproximada (kg)	Esperanza media de vida en la madurez (años)
Ratón de patas blancas	0.02	0.28
Ratón ciervo	0.02	0.43
Topillo rojo (*Myodes glareolus*)	0.025	0.48
Tamias (*Tamias striatus*)	0.1	1.63
Pica americana (*Ochotona princeps*)	0.13	2.33
Ardilla de manto dorado (*Spermophilus lateralis*)	0.155	2.12
Ardilla roja	0.189	2.45
Ardilla de Belding	0.25	1.78
Ardilla de Uinta (*Spermophilus armatus*)	0.35	1.72
Ardilla gris oriental	0.6	2.17
Ardilla del Ártico (*Spermophilus parryii*)	0.7	1.71
Conejo de cola de algodón (*Sylvilagus floridanus*)	1.25	1.48
Zorrillo listado	2.25	1.90
Tejón americano	7.15	2.33
Nutria de río norteamericana (*Lontra canadensis*)	7.2	3.79
Lince	7.5	2.48
Castor norteamericano (*Castor canadensis*)	18	1.52
Impala	44	4.80
Borrego cimarrón (*Ovis Canadensis Mexicana*)	55	5.48
Jabalí	85	1.91
Jabalí verrugoso	87	2.82
Tahr del Nilgiri (*Hemitragus hylocrius*)	100	4.71
Ñu azul	165	4.79
Ciervo rojo	175	4.90
Antílope acuático	200	5.87
Cebra de Burchell (*Equus burchelli*)	270	7.95
Búfalo africano	490	4.82
Hipopótamo	2 390	16.40
Elefante africano	4 000	19.10

Adaptado de Millar JS, Zammuto: Life histories of mammals: An analysis of life tables. Ecology 1983; 64:631.

de 3′ a 5′ (cap. 35). Si bien en el DNA circular cerrado éste no es un problema, cuando se trata de replicar los extremos 5′ de un DNA bicatenario lineal por medio de síntesis 3′ a 5′ discontinua y ligadura de fragmentos de **Okazaki** pequeños, simplemente no hay suficiente espacio en el extremo para dar cabida al cebador de RNA pequeño, polimerasa, etc. La síntesis del extremo 5′ de cada cadena generalmente se quedará corta 100 bp o más. Cada vez que una célula se divide, su genoma se acortará más (**figura 54-7**). Los telómeros proporcionan una fuente inocua de DNA cuya longitud decreciente tiene pocas consecuencias para la célula. De cualquier modo, una vez que se agota el abasto de DNA de telómero, a grandes rasgos 100 divisiones celulares para el ser humano, toda la mitosis cesa y la célula somática entra en un estado de **senescencia replicativa**. A medida que cada vez más células dentro del organismo entran en senescencia, gradualmente pierde la capacidad para remplazar células perdidas o dañadas.

Los organismos son capaces de producir progenie que contiene telómeros de longitud completa gracias a la intervención de la enzima **telomerasa**. La telomerasa es una ribonucleoproteína que se expresa en células madre y en casi todas las células cancerosas, no así en células somáticas. Usando una plantilla de RNA, la telomerasa añade secuencias de repetición de hexanucleótido ricas en GT que varían desde algunos cientos (en levaduras) hasta varios miles (en seres humanos) de nucleótidos de longitud a los extremos de moléculas de DNA lineal para restituir sus telómeros a longitud completa. Cuando células somáticas son procesadas mediante ingeniería genética en el laboratorio para que expresen telomerasa, se siguen dividiendo en cultivo mucho tiempo después de que una línea celular testigo no alterada deja de dividirse. La capacidad para evitar la senescencia replicativa usando una enzima que mantiene los telómeros a longitud completa representa la evidencia más convincente de la operación de un reloj de telómero.

Kenyon usó un organismo modelo para descubrir los primeros genes del envejecimiento

Muchos avances en la ciencia biomédica son el producto de investigación en la que se usan diversos organismos denominados modelo como su sujeto de pruebas. La mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, ha proporcionado una rica recopilación de información respecto a los genes que guían la diferenciación celular y el desarrollo de órganos. La levadura para hornear y la rana con garras africana *Xenopus laevis*, han servido como los caballos de tiro para analizar detalladamente los complejos circuitos de transducción de señal que dirigen el ciclo de división celular. Varias líneas celulares de mamífero en cultivo sirven como sustitutos para adipocitos, células renales, tumores, dendritas, etc. Mientras que a primera vista parecería que muchos de estos sistemas modelo tienen pocas características en común con el ser humano, cada uno posee atributos singulares que los hacen vehículos convenientes para abordar ciertos problemas y explorar sistemas específicos.

Caenorhabditis elegans es un gusano que ha servido como un sujeto importante para el estudio de la biología del desarrollo. *C. elegans* es transparente y crece con rapidez, atributos que facilitaron llevar un registro del programa de desarrollo entero de las 959 células que se encuentran en el adulto maduro hasta el huevo fecundado. A principios del decenio de 1990, Cynthia Kenyon y colegas observaron que los gusanos que portan mutaciones del gen que codifica para una molécula tipo receptor de insulina, *daf-2,* vivieron 70% más tiempo que sus homólogos naturales. Igual de importante, los gusanos mutantes se comportaron de una manera que semejó la de un *C. elegans* natural joven

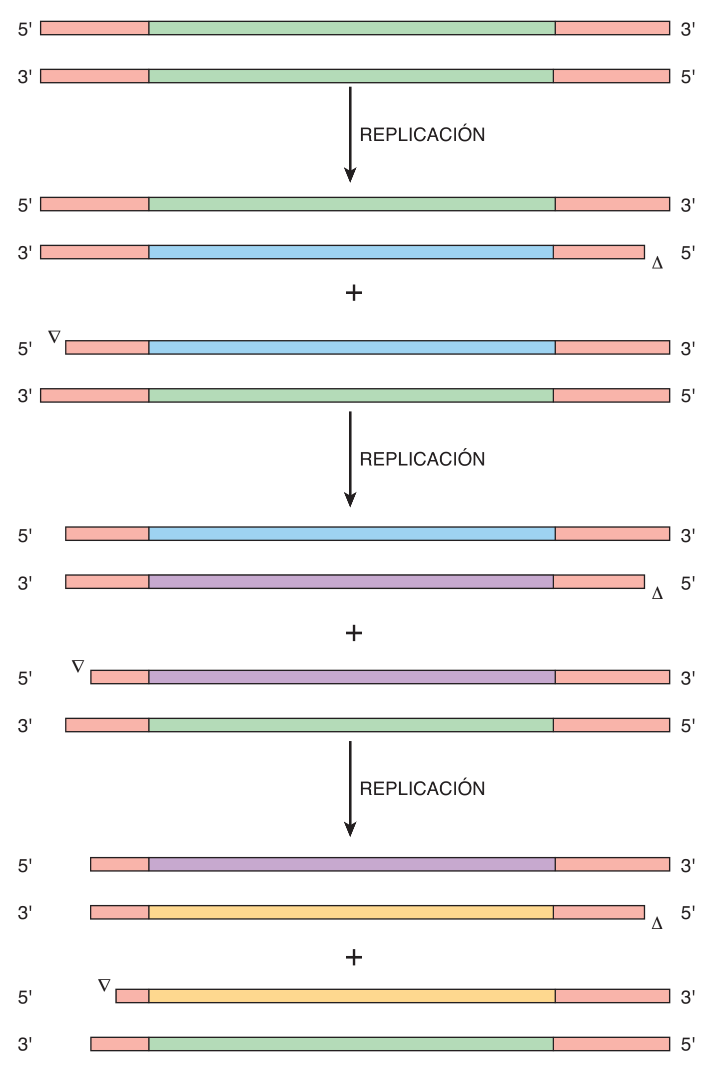


FIGURA 54–7 Los telómeros en los extremos de cromosomas eucariontes se acortan progresivamente con cada ciclo de replicación. Diagrama esquemático del DNA lineal de un cromosoma eucarionte (verde) que contiene telómeros en cada extremo (rojo). Durante la primera replicación, se sintetizan nuevas cadenas de DNA (verde) usando el cromosoma original como plantilla. En aras de la sencillez, los siguientes dos ciclos de replicación (púrpura, amarillo) muestran el destino de sólo lo más bajo de los dos productos de nucleótido desde el ciclo replicativo precedente. Las puntas de flecha blancas denotan el sitio de síntesis de cadena incompleta. El modelo supone que las cadenas únicas que cuelgan en los extremos de cada cromosoma son recortadas en el momento en que se completa cada ciclo de división celular. Nótese el acortamiento progresivo de las repeticiones de telómero.

durante gran parte de este periodo. Ésta es una distinción importante. Para que reúnan las condiciones necesarias para ser un "gen del envejecimiento", su manipulación debe lograr más que meramente prolongar la edad avanzada al retrasar el punto en el cual cesa la vida. Debe tener repercusiones sobre el programa de cambios asociados con el envejecimiento.

La investigación de otros genes del envejecimiento indica que codifican para un factor de transcripción o un pequeño grupo de factores de transcripción que incluyen PHA-4 o DAF-16 que probablemente controlan la expresión de genes cruciales del envejecimiento, o proteínas emisoras de señales como DAF-2 que probablemente activan PHA-4, DAF-16, etc., en respuesta a señales ambientales específicas. Queda mucho por aprender acerca del grado al cual el envejecimiento está controlado por eventos de programación genética, y cómo estos productos de gen interactúan con los muchos otros factores que influyen sobre la vitalidad y la longevidad, entre ellos nutrición, estrés ambiental, etcétera.

¿POR QUÉ LA EVOLUCIÓN SELECCIONARÍA LAPSOS DE VIDA LIMITADOS?

La idea de que los animales habrían adquirido por evolución mecanismos designados específicamente para limitar su lapso de vida parecería, a primera vista, muy ilógica. Si la fuerza impulsora que está detrás de la evolución es la selección de rasgos que aumentan la buena forma física y la supervivencia, ¿esto no debe traducirse en una esperanza de vida siempre creciente? Si bien la maximización del lapso de vida puede representar un rasgo deseable desde el punto de vista del individuo, esto no necesariamente se aplica a una población o especie como un conjunto. Un límite genéticamente programado sobre el lapso de vida podría beneficiar al grupo al eliminar la sangría de los recursos disponibles impuesta por miembros que ya no participan de manera activa en la producción, el desarrollo y el entrenamiento de la descendencia. De hecho, puede racionalizarse que el lapso de vida de tres generaciones actual proporciona tiempo para que a) los recién nacidos se desarrollen hacia adultos jóvenes activos desde el punto de vista reproductivo, b) para que estos adultos jóvenes protejan y nutran a su descendencia y c) para que sirvan como una fuente de guía y asistencia para adultos jóvenes que encaran los desafíos de la maternidad y paternidad, y de la crianza de hijos.

RESUMEN

- El envejecimiento y la longevidad están controlados mediante la interacción compleja y en su mayor parte críptica entre factores al azar y deterministas que incluyen programación genética, estreses ambientales, estilo de vida, relojes de cuenta regresiva celulares, y procesos de reparación molecular.
- Las teorías del desgaste, del envejecimiento, plantean la hipótesis de que los cambios asociados con la vejez y la muerte en sí reflejan la acumulación de daño con el tiempo.
- Los elementos ambientales omnipresentes y esenciales para la vida: agua, oxígeno y luz, poseen una capacidad intrínseca para dañar macromoléculas biológicas.
- Las ROS, como el radical hidroxilo y el superóxido son en particular problemáticas porque son altamente reactivas, a menudo participan en reacciones en cadena que multiplican sus repercusiones, y son generadas continuamente como un subproducto de la compleja red de reacciones redox que están teniendo lugar en la cadena de transporte de electrones.
- La reactividad de sus sistemas en anillo no saturados y la capacidad para absorber luz UV hacen a las bases de nucleótido del DNA en particular vulnerables a UV o daño por sustancias químicas.
- Las mutaciones originadas por errores causados por bases de nucleótidos faltantes o químicamente modificadas pueden ser en

particular perjudiciales, porque pueden dar lugar a transformación oncogénica o hacer a una célula vulnerable a daño adicional.

- Las mitocondrias ocupan un lugar fundamental en muchas teorías del envejecimiento y la muerte. Esta prominencia puede atribuirse a varios factores. Las mitocondrias son el sitio de la cadena de transporte de electrones, con mucho la fuente más grande de ROS en la célula.
- La producción eficiente de ATP es esencial para la vitalidad de la célula. Las mitocondrias desempeñan un papel fundamental en la apoptosis, la muerte celular programada. Las mitocondrias carecen de la capacidad para reparar daño de su DNA.
- En células eucariontes, secuencias repetitivas largas llamadas telómeros cubren los extremos de sus cromosomas lineales. Estos telómeros se acortan progresivamente cada vez que una célula somática se divide. Cuando los telómeros de una célula somática se hacen demasiado cortos, la célula entra en senescencia replicativa. Así, se ha emitido la hipótesis de que los telómeros sirven como un reloj de cuenta regresiva para células somáticas.
- El lapso de vida de animales tal vez esté genéticamente programado. La mutación del gen *daf-2* en *Caenorhabditis elegans* dio por resultado gusanos cuyo lapso de vida fue 70% más prolongado que el de gusanos naturales.
- La selección evolutiva de un lapso de vida limitado optimiza la vitalidad de la especie más que la de sus miembros individuales.

REFERENCIAS

Aguzzi A, O'Connor T: Protein aggregation diseases: pathogenicity and therapeutic perspectives. Nat Drug Discov 2010;9:237.

Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, et al: Sequence and organization of the human mitochondrial genome. Nature 1981; 290:457.

Arias E, Curtin LR, Wei R, et al: U.S. decennial life tables for 1999–2001, United States life tables. Natl Vital Stat Rep 2008;57:1.

Berlett BS, Stadtman ER: Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. J Biol Chem 1997;272:20313.

Clarke S: Aging as war between chemical and biochemical processes: Protein methylation and the recognition of age-damaged proteins for repair. Ageing Res Rev 2003;2:263.

Eisenberg DTA: An evolutionary overview of human telomere biology: the thrifty telomere hypothesis and notes on potential adaptive paternal effects. Am J Hum Biol 2011; 23:149.

Kenyon CJ: The genetics of aging. Nature 2010;464:504.

Knight JA: The biochemistry of aging. Adv Clin Chem 2000;35:1.

Speakman JR: Body size, energy metabolism and lifespan. J Exp Biol 2005;208:1717.

Ulrich P, Cerami A: Protein glycation, diabetes, and aging. Recent Prog Horm Res 2001;56:1.

CAPÍTULO 55

Cáncer: una perspectiva general

Robert K. Murray, MD, PhD, Molly Jacob, MB BS, MD, PhD, y Joe Varghese, MB BS, MD

OBJETIVOS

Después de estudiar este capítulo, usted debe ser capaz de:

- Presentar una perspectiva general de los aspectos importantes de las características bioquímicas y genéticas de las células cancerosas.
- Describir propiedades importantes de oncogenes y genes supresores tumorales.
- Describir brevemente los conceptos de inestabilidad genómica, aneuploidia y angiogénesis en tumores.
- Comentar el uso de marcadores tumorales para dar seguimiento a las respuestas a tratamientos, y para detectar recurrencias.
- Apreciar que el entendimiento reciente de las propiedades biológicas del cáncer ha llevado a la creación de varias terapias nuevas.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los cánceres constituyen la **segunda causa más común de muerte**, después de la enfermedad cardiovascular, en Estados Unidos y muchos otros países. Cada año, alrededor de 6 a 7 millones de personas de todo el mundo mueren por cáncer, y se calcula que esta cifra va en aumento. Seres humanos de todas las edades presentan cáncer, y hay afección de una amplia variedad de órganos. A nivel mundial, los principales tipos de cáncer que explican mortalidad son los que afectan los pulmones, el estómago, el colon, el recto, el hígado y las mamas. Otros tipos de cáncer que llevan a la muerte son los cánceres cervical, esofágico y prostático. Los cánceres cutáneos son muy comunes pero, salvo los melanomas, en general no son tan agresivos como los antes mencionados. La incidencia de muchos cánceres aumenta con la **edad**; por ende, a medida que las personas vivan más tiempo, muchas más presentarán la enfermedad. Los factores hereditarios están implicados en algunos tipos de tumores. Además del gran sufrimiento individual causado por la enfermedad, la carga económica para la sociedad es inmensa.

ALGUNOS COMENTARIOS GENERALES SOBRE LAS NEOPLASIAS

Neoplasia se refiere a cualquier crecimiento nuevo y anormal de tejido. Puede ser de naturaleza benigna o maligna. El término "cáncer" por lo general se relaciona con tumores malignos. Los tumores pueden surgir en cualquier órgano del cuerpo y dar lugar a diferentes datos clínicos, dependiendo de la ubicación del tumor.

Las células cancerosas se caracterizan por ciertas propiedades clave: 1) proliferan con rapidez y muestran disminución del control del crecimiento, 2) muestran pérdida de la inhibición por contacto *in vitro*, y 3) **invaden** tejidos locales y se **diseminan** (metastatizan) hacia otras partes del cuerpo; estas propiedades son características de las células de tumores malignos. Las muertes de pacientes que tienen cáncer por lo general dependen de esta última propiedad. Las células de tumores benignos también muestran reducción del control del crecimiento, pero no invaden tejido local ni se diseminan a otras partes del cuerpo. Otras propiedades importantes de las células cancerosas son como sigue: 1) son **autosuficientes en cuanto a señales de crecimiento**, 2) son **insensibles a señales anticrecimiento**, 3) estimulan la **angiogénesis** local y 4) a menudo pueden **evadir la apoptosis**. Estos puntos se resumen en la **figura 55-1**.

En la **figura 55-2** se muestran varias otras propiedades importantes asociadas con células cancerosas. Estos diversos puntos se comentarán a continuación.

Los **problemas fundamentales** en el cáncer son elucidar los mecanismos bioquímicos y genéticos que subyacen al crecimiento descontrolado de células cancerosas, su capacidad para invadir y metastatizar, y crear tratamientos exitosos que destruyan células cancerosas, mientras que causen daño mínimo a células normales. Se ha conseguido progreso considerable en el entendimiento de la naturaleza básica de las células cancerosas; un dato fundamental es que el cáncer es una enfermedad debida a anormalidades en genes clave. Sin embargo, muchos aspectos de la conducta de células cancerosas, en particular su capacidad para diseminarse, todavía no se han explicado por completo. Además, pese a mejoras en el tratamiento de ciertos tipos de cánceres, las terapias aún fracasan a menudo. El estudio del cáncer (oncología) es un área enorme, de modo que en un capítulo pequeño como el presente sólo es posible introducir al lector a algunos aspectos clave.

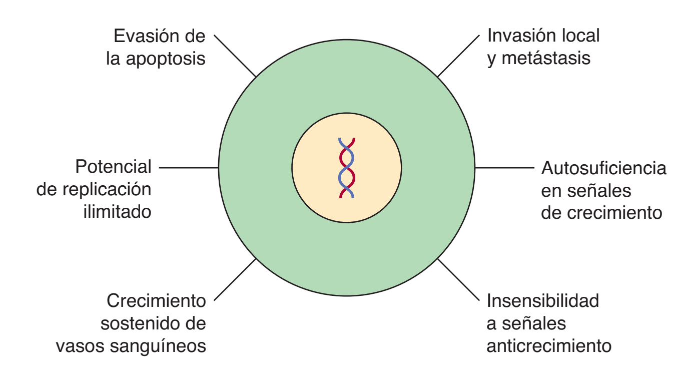


FIGURA 55–1 Seis características principales de las células cancerosas. En la figura 55-2 se muestran otras propiedades importantes de las células cancerosas. (Con autorización, según Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. Cell 2000;100:57).

En el **glosario** que se presenta al final de este capítulo se resumen los significados de muchos de los términos que se utilizan.

CARACTERÍSTICAS FUNDAMENTALES DE LA CARCINOGÉNESIS

El daño genético no mortal es el evento iniciador en la carcinogénesis. Hay principalmente cuatro clases de genes, que cuando quedan afectados por ese tipo de daño, pueden dar lugar a la formación de un tumor; se trata de **protooncogenes**, **genes supresores tumorales**, **genes involucrados en la reparación del DNA**, y **los que están involucrados en la apoptosis**. El cáncer es de **origen clonal**; una célula única anormal se multiplica para convertirse en una masa de células que forman un tumor. Así, la carcinogénesis es un **proceso de múltiples pasos**, con múltiples alteraciones genéticas en células, lo cual transforma células normales en células malignas. Por ende, la formación de un tumor a menudo comprende varios años.

CAUSAS DEL DAÑO GENÉTICO

El daño genético puede deberse a mutaciones adquiridas o hereditarias. Las primeras ocurren debido a exposición a carcinógenos ambientales, mientras que las segundas son hereditarias. Esas anormalidades hereditarias dan lugar a varias **afecciones familiares** que predisponen a cáncer hereditario. Estas mutaciones se encuentran en genes específicos (p. ej., genes supresores tumorales) presentes en las células germinales, y se comentan más adelante.

Las **mutaciones espontáneas**, algunas de las cuales pueden predisponer a cáncer, ocurren a una frecuencia de alrededor de 10^{-7} a 10^{-6} por cada célula por cada generación. Esta tasa aumentará en tejidos sujetos a una tasa de proliferación alta, lo que incrementa la generación de células cancerosas a partir de las células progenitoras afectadas. El **estrés oxidativo** (cap. 45), al producir números aumentados de especies de oxígeno reactivas, puede ser un factor en el aumento de la tasa de mutación.

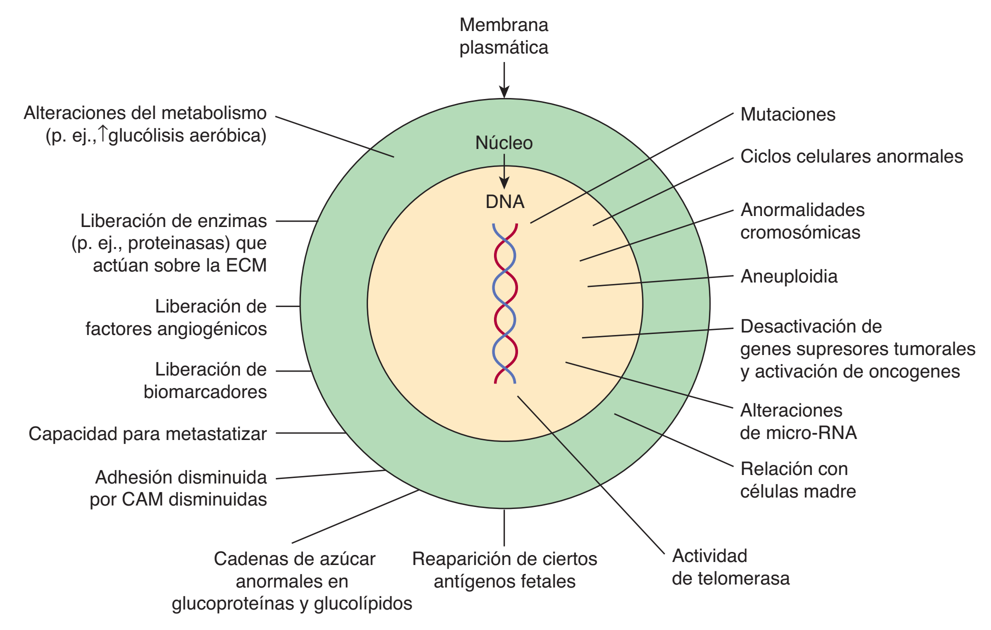


FIGURA 55–2 Algunos cambios bioquímicos y genéticos que ocurren en células cancerosas del ser humano. Además de los cambios que se indican en la figura 55-1, se observan muchos cambios en las células cancerosas, sólo algunos de los cuales se muestran aquí. En el texto se comenta la implicación de las mutaciones en la activación de oncogenes y la desactivación de genes supresores tumorales. Las anormalidades del paso de células por ciclo, y de la estructura de cromosomas, incluso aneuploidia, son comunes. Se han reportado alteraciones de moléculas de microRNA que regulan actividades de genes, y la relación de células madre con células cancerosas es un área de investigación muy activa. En células cancerosas suele ser detectable actividad de telomerasa. Los tumores a veces sintetizan ciertos antígenos fetales, que pueden ser medibles en la sangre. En muchos estudios se han detectado cambios de los constituyentes de la membrana plasmática (p. ej., alteración de las cadenas de azúcar de diversas glucoproteínas —algunas de las cuales son moléculas de adhesión celular— y glucolípidos), y pueden ser de importancia en la relación con decremento de la adhesión celular y metástasis. Diversas moléculas pueden salir de células cancerosas, y pueden detectarse en la sangre como biomarcadores tumorales. Algunos tumores también liberan factores angiogénicos y diversas proteinasas. Se han observado muchos cambios del metabolismo; por ejemplo, las células cancerosas a menudo muestran una tasa alta de glucólisis aeróbica. (CAM, molécula de adhesión celular; ECM, matriz extracelular.)

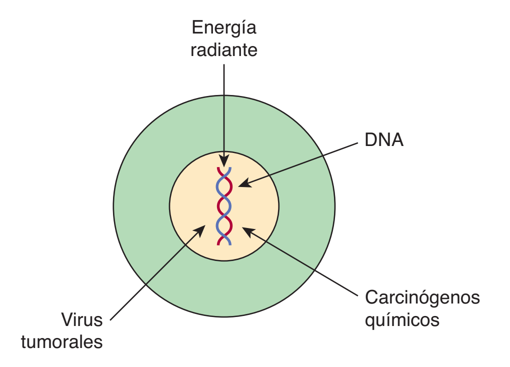


FIGURA 55–3 **La energía radiante, los carcinógenos químicos y ciertos virus pueden causar cáncer.**

CUADRO 55–2 **Algunos carcinógenos químicos**

Clase	Compuesto
Hidrocarburos aromáticos policíclicos	Benzo[a]pireno, dimetilbenz-antraceno
Aminas aromáticas	2-Acetilaminofluoreno, *N*-metil-4-aminoazobenceno (MAB)
Nitrosaminas	Dimetilnitrosamina, dietilnitrosamina
Diversos fármacos	Alquilantes (p. ej., ciclofosfamida), dietilestilbestrol
Compuestos naturales	Dactinomicina, aflatoxina B_1

Nota: como se listan arriba, algunos fármacos usados como quimioterápicos (p. ej., ciclofosfamida) pueden ser carcinogénicos. En el pasado, se administró dietilestilbestrol a mujeres como un agente estrogénico; si quedaron embarazadas, algunas de sus hijas presentaron cáncer vaginal.

LA ENERGÍA RADIANTE, LAS SUSTANCIAS QUÍMICAS Y CIERTOS VIRUS SON LAS PRINCIPALES CAUSAS CONOCIDAS DE CÁNCER

En general, hay tres clases de carcinógenos, la exposición a los cuales da por resultado la formación de tumor: **energía radiante**, **sustancias químicas** y **ciertos virus oncogénicos** (**figura 55-3**). Las dos primeras causan mutaciones en el DNA, y la tercera clase por lo general actúa al introducir genes nuevos en células normales.

Sólo se describirá brevemente la manera en que la energía radiante, las sustancias químicas y los virus oncogénicos causan cáncer.

La energía radiante puede ser carcinogénica

Los **rayos ultravioleta**, los **rayos X** y los **rayos γ** son mutagénicos y carcinogénicos. Estudios extensos han mostrado que estos agentes pueden dañar el DNA de diversas maneras, incluso las lesiones que se listan en el **cuadro 55-1**. Se cree que las mutaciones del DNA debidas a ese tipo de daño son el mecanismo básico de carcinogenicidad causada por energía radiante, si bien las vías exactas todavía se están investigando. Los rayos X y los rayos γ pueden causar la formación de especies de oxígeno reactivas (ROS), las cuales también pueden ser mutagénicas y probablemente contribuyen a los efectos carcinogénicos de la energía radiante.

La exposición a la radiación ultravioleta es común debido a la exposición a la luz solar, que es su principal fuente. Amplia evidencia muestra que ese tipo de radiación está correlacionada con cánceres de la piel. El riesgo de presentar cáncer cutáneo debido a radiación ultravioleta aumenta con la frecuencia y la intensidad crecientes de la exposición, y con el contenido decreciente de melanina de la piel.

El daño del DNA producido por agentes ambientales por lo general se elimina a través de mecanismos de reparación del DNA. Los individuos que tienen incapacidad hereditaria para reparar el DNA, como se observa en el xeroderma pigmentoso (cap. 57) y en la ataxia telangiectásica, tienen aumento del riesgo de presentar una enfermedad maligna.

CUADRO 55–1 **Algunos tipos de daño de DNA causado por energía radiante**

- Formación de dímeros de pirimidina.
- Formación de sitios apurínicos o apirimidínicos por eliminación de bases correspondientes.
- Formación de roturas monocatenarias o bicatenarias o entrecruzamiento (*cross-linking*) de cadenas de DNA.

Muchas sustancias químicas son carcinogénicas

Una amplia variedad de compuestos químicos son carcinogénicos (**cuadro 55-2** y **figura 55-4**). Se estima que tal vez **80%** de los cánceres de seres humanos se origina por factores ambientales, principalmente sustancias químicas.

Se han realizado extensos estudios en el campo de la carcinogénesis química. En general, se piensa que casi todos los carcinógenos químicos **interactúan de manera covalente con el DNA**, lo que forma una amplia variedad de **aductos**. Dependiendo de la extensión del daño del DNA y su reparación mediante los sistemas de reparación del DNA (cap. 35), diversas mutaciones del DNA pueden producirse por exposición de un animal o ser humano a carcinógenos químicos, algunos de los cuales contribuyen a la aparición de cáncer.

Ciertas sustancias químicas **interactúan de modo directo** con el DNA (p. ej., metcloretamina y β-propiolactona), pero otras (**procarcinógenos**) requieren conversión mediante acción enzimática para convertirse en **carcinógenos finales** (**figura 55-5**). Casi todos los carcinógenos finales son **electrófilos** (moléculas con deficiencia de electrones) y atacan fácilmente grupos nucleofílicos (ricos en electrones) en el DNA. La conversión de sustancias químicas en **carcinógenos finales** se debe principalmente a las acciones de diversas especies de citocromo P450 ubicadas en el retículo endoplásmico (ER) (cap. 53). Este hecho se usa en el análisis de Ames (véase más adelante), en el cual se añade una alícuota de sobrenadante posmitocondrial (que con-

$COCH_3$ N H — N=N — $NHCH_3$

Benzo(a)pireno **2-Acetilaminofluoreno** ***N*-metil-4-aminoazobenceno**

FIGURA 55–4 Estructuras de tres carcinógenos químicos usados ampliamente con fines experimentales.

tiene ER) al sistema de análisis como una fuente de enzimas del citocromo P450.

La carcinogénesis química comprende dos estadios: **inicio** y **promoción**. El inicio es el estadio en el cual la exposición a una sustancia química causa daño irreversible del DNA, y es un evento inicial necesario para que una célula se haga cancerosa. La promoción comprende el estadio en el cual una célula iniciada empieza a crecer y proliferar. El efecto acumulativo de estos estadios es una neoplasia.

Los carcinógenos químicos pueden identificarse al investigar su mutagenicidad. Una manera sencilla de hacer esto es con el **análisis de Ames** (**figura 55-6**). Esta prueba relativamente sencilla, que detecta mutaciones en *Salmonella typhimurium* causadas por sustancias químicas, ha resultado muy valiosa para propósitos de investigación. Una refinación de la prueba de Ames es añadir una alícuota de retículo endoplásmico (ER) al análisis, para hacer posible identificar procarcinógenos. De los compuestos que han tenido resultados negativos en el análisis de Ames, muy pocos, si es que hay alguno, se ha mostrado que causen tumores en animales. Sin embargo, se requieren análisis en animales para mostrar de manera inequívoca que una sustancia química es carcinogénica.

Cabe hacer notar que los compuestos que alteran factores epigenéticos (p. ej., estilbestrol), lo que, así, tal vez lleve a cáncer, no tendrían resultados positivos en la prueba de Ames, puesto que no son mutagénicos.

Aproximadamente 15% de los cánceres de seres humanos puede originarse por virus

El estudio de **virus tumorales** ha contribuido de manera muy importante al entendimiento del cáncer. Por ejemplo, el descubrimiento tanto de oncogenes como de genes supresores tumorales (véase más adelante) surgió a partir de estudios de virus oncogénicos. Virus tanto DNA como RNA han sido identificados como capaces de causar cánceres en seres humanos (**cuadro 55-3**). Los detalles de cómo cada uno de estos virus causa cáncer no se describirán aquí. En general, el material genético del virus es incorporado en el genoma de la célula huésped. En el caso de virus RNA, esto ocurriría después de transcripción inversa del RNA viral hacia DNA viral. Esa integración del DNA viral (llamado provirus) con el DNA del huésped da lugar a varios eventos como **desregulación del ciclo celular**, **inhibición de la apoptosis**, y **anormalidades de las vías de emisión de señales celulares**. Todos estos eventos se comentan más adelante en este capítulo. Los **virus DNA** a menudo actúan mediante regulación descendente de los genes supresores tumorales *P53* y *RB* (véase más adelante). Los virus RNA a menudo portan oncogenes en su genoma; la manera en que los oncogenes actúan para causar enfermedad maligna se comenta más adelante. Se ha estimado que alrededor de 15% de los tumores de seres humanos puede originarse por virus.

A. Carcinógeno directo → DNA

Enzima
B. Procarcinógeno → Carcinógeno final → DNA

FIGURA 55–5 Carcinógenos (A) directos y (B) indirectos. Los carcinógenos directos pueden interactuar con el DNA sin activación enzimática previa. Los carcinógenos indirectos son activados por una enzima (p. ej., una especie de citocromo P450) al carcinógeno final y entonces interactúan con el DNA.

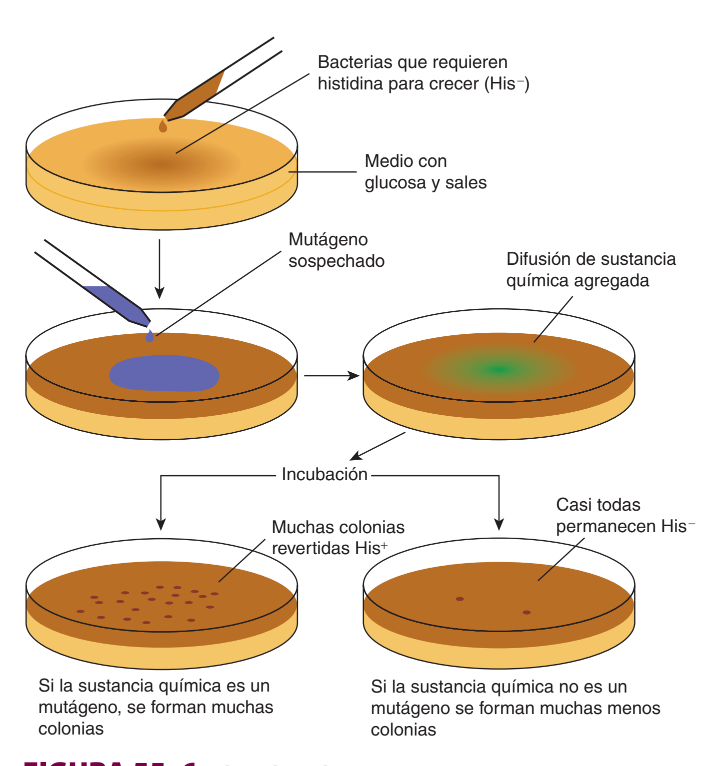


FIGURA 55–6 El análisis de Ames para investigar mutágenos. La sustancia química probada aumentará la frecuencia de reversión de células His^- a His^+ si es un mutágeno y, por ende, un carcinógeno potencial. Una placa testigo (que no se muestra) contiene el líquido en el cual está disuelto el mutágeno sospechado. Reproducida, con autorización, de Nester EW *et al.*: *Microbiology: A Human Perspective.* 5th ed. McGraw-Hill, 2007.

CUADRO 55–3 Algunos virus que causan cánceres en seres humanos o que se asocian con los mismos

Virus	Genoma	Cáncer
Virus de Epstein-Barr	DNA	Linfoma de Burkitt, cáncer nasofaríngeo, linfoma de células B
Hepatitis B	DNA	Carcinoma hepatocelular
Hepatitis C	RNA	Carcinoma hepatocelular
Herpesvirus humano tipo I	DNA	Sarcoma de Kaposi
Virus del papiloma humano (ciertos tipos)	DNA	Cáncer de cuello uterino
Virus de la leucemia humana de células T tipo 1	RNA	Leucemia de células T del adulto

Nota: se ha estimado que los cánceres de seres humanos correlacionados con virus causan ~15% de la incidencia total de cáncer.

CUADRO 55–4 Mecanismos de activación de oncogenes

Mecanismo	Explicación
Mutación	Un ejemplo clásico es la mutación puntual del oncogén *RAS*. Esto hace que el producto del gen, una GTPasa pequeña, tenga menos actividad en tumores, y que haya estimulación resultante de la actividad de adenilil ciclasa.
Inserción de promotor	La inserción de una región promotora viral cerca de un gen lo activa.
Inserción de aumentador	La inserción de una región aumentadora viral cerca de un gen lo activa.
Translocación cromosómica	La base es que un fragmento de un cromosoma es dividido y unido a otro. Los ejemplos clásicos son los involucrados en el linfoma de Burkitt (figura 55-8) y en el cromosoma Filadelfia (véase el glosario).
Amplificación de gen[1]	Ocurre multiplicación anormal de un gen, lo que da por resultado muchas copias. Esto puede suceder con oncogenes y con genes involucrados en la resistencia de tumores a fármacos.

[1] La amplificación de gen puede reconocerse como regiones coloreadas de manera homogénea en cromosomas, o como cromosomas diminutos dobles.

LOS ONCOGENES Y LOS GENES SUPRESORES TUMORALES DESEMPEÑAN FUNCIONES CLAVE EN LA CAUSA DEL CÁNCER

Durante los alrededor de 30 años anteriores, se han logrado avances importantes en el entendimiento de cómo las células cancerosas se desarrollan y crecen. Dos datos clave fueron los descubrimientos de **oncogenes** y **genes supresores tumorales**. Estos descubrimientos apuntaron a mecanismos específicos mediante los cuales el crecimiento y la división celulares podrían quedar alterados, lo que da lugar a crecimiento anormal. En la **figura 55-7** se resumen los efectos generales de los oncogenes, y la pérdida de la actividad de genes supresores tumorales.

Los oncogenes se derivan de protooncogenes que codifican para una amplia variedad de proteínas que afectan el crecimiento y la muerte celulares

Un **oncogén** puede definirse como un gen alterado cuyo producto actúa de una manera dominante con el propósito de acelerar el crecimiento o la división celular. Se produce por "activación" de **protooncogenes** celulares normales (que codifican para proteínas estimuladoras del crecimiento). El **cuadro 55-4** lista los mecanismos involucrados en esa activación.

Protooncogenes → Oncogenes → ↑Tasa de crecimiento → → → Cáncer
Genes supresores tumorales → Desactivados →

FIGURA 55–7 Los oncogenes y la pérdida de actividad de genes supresores tumorales impulsan el crecimiento de las células hacia cáncer. Los oncogenes codifican para diversas proteínas que pueden impulsar el crecimiento de células cancerosas. Los oncogenes se derivan de protooncogenes. Los genes supresores tumorales codifican para proteínas que en circunstancias normales suprimen el crecimiento celular, pero que son desactivadas cuando quedan alteradas por mutaciones. Moléculas de microRNA (que no se muestran aquí) también son afectadas por mutaciones, y esto puede afectar sus funciones reguladoras normales. Además, los cambios epigenéticos (tampoco se muestran) afectan la expresión de gen y, por ende, el crecimiento de células cancerosas.

En el cuadro se lista un ejemplo de una **mutación puntual** que ocurre en el oncogén *RAS*, que codifica para una GTPasa pequeña. La pérdida de la actividad de esta proteína G (cap. 42) da lugar a estimulación crónica de la actividad de la adenilil ciclasa, lo que lleva a proliferación celular. Otra manera en que puede activarse un oncogén es por medio de **inserción de un promotor** (**figura 55-8[A]**), en la cual la integración de un provirus retroviral (esto es, una copia de DNA del genoma RNA de un virus tumoral como el virus del sarcoma de Rous, hecha por medio de transcriptasa inversa) activa *MYC*, un gen vecino del huésped. La sobreproducción de la proteína codificada por *MYC* (un factor de transcripción) estimula la proliferación celular. Como lo indica el pie de la figura 55-8(A), se produce un tipo de efecto similar por **inserción de aumentador**. En células cancerosas se encuentran con bastante frecuencia **translocaciones cromosómicas**; se han documentado alrededor de un ciento de ejemplos diferentes. En la **figura 55-8(B)** se ilustra la translocación que se encuentra en casos de linfoma de Burkitt. El efecto general de esta translocación también es activar *MYC*, lo que da por resultado proliferación celular. Aun otro mecanismo de activación de oncogén es por medio de **amplificación de gen**, que ocurre bastante comúnmente en diversos cánceres. En este caso, se forman múltiples copias de un oncogén, lo que da lugar a producción aumentada de una proteína promotora del crecimiento.

Una vez que los oncogenes son activados, **¿de qué modo sus productos actúan para promover la aparición de cáncer?** En la **figura 55-9** se muestran algunas de las maneras en las cuales operan. Algunos afectan vías de emisión de señales celulares (p. ej., el producto de un oncogén puede actuar como factor de crecimiento, receptor de factor de crecimiento, proteína G o como molécula emisora de señales torrente abajo). Otros actúan

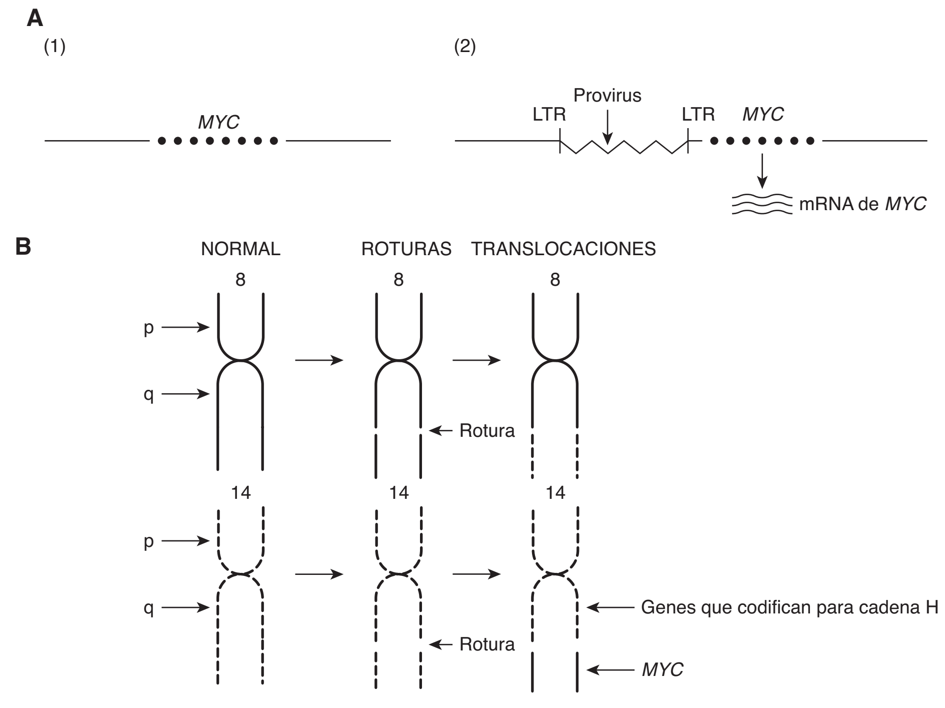


FIGURA 55–8 A) Representación esquemática de la manera en que la inserción de promotor puede activar un protooncogén. 1) Cromosoma de pollo normal que muestra un gen *MYC* inactivo. 2) Un virus de la leucemia aviar se ha integrado en el cromosoma en su forma proviral (una copia de DNA de su genoma RNA) adyacente al gen *MYC*. Su repetición terminal larga (LTR) diestra, que contiene un promotor fuerte (cap. 36), yace justo torrente arriba del gen *MYC* y activa ese gen, lo que da lugar a transcripción de mRNA de *MYC*. En aras de la sencillez, sólo se describe una cadena de DNA y se han omitido los otros detalles. La inserción de aumentador actúa de modo similar, excepto porque el sitio de integración puede estar torrente abajo o considerablemente torrente arriba, y no puede actuar como un promotor. En lugar de eso, una secuencia proviral específica actúa como un elemento aumentador (cap. 36) que lleva a activación del gen *MYC* y su transcripción. **B) Representación esquemática de la translocación recíproca involucrada en el linfoma de Burkitt.** Los cromosomas afectados son 8 y 14. Un segmento del extremo del brazo q del cromosoma 8 se desprende y se mueve hacia el cromosoma 14. El proceso inverso mueve un segmento pequeño del brazo q del cromosoma 14 al cromosoma 8. El gen *MYC* está contenido en el pequeño fragmento del cromosoma 8 que se transfirió al cromosoma 14; de este modo es colocado cerca de genes que transcriben las cadenas pesadas de moléculas de inmunoglobulina, y queda activado por sí mismo. Se han identificado muchas otras translocaciones; quizá la mejor conocida es la involucrada en la formación del cromosoma Filadelfia (véase el glosario).

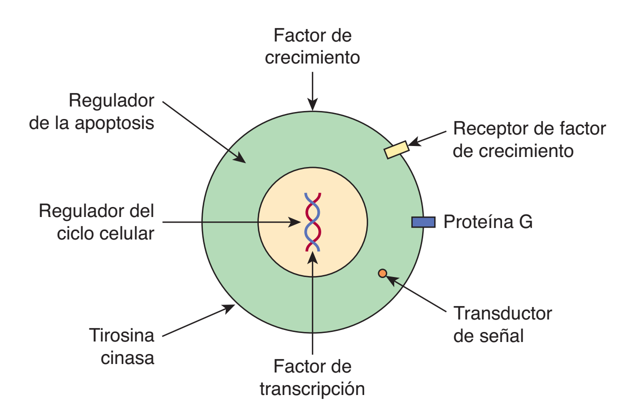


FIGURA 55–9 Algunas maneras en las cuales funcionan proteínas codificadas por oncogenes. En la figura se muestran ejemplos de diversas proteínas codificadas por oncogenes. Las proteínas se listan a continuación, con el oncogén correspondiente entre paréntesis junto con su número de OMIM. Un factor de crecimiento, el factor de crecimiento de fibroblastos 3 (*INT2*,164950); un receptor de factor de crecimiento, el receptor de factor de crecimiento epidérmico [EGFR] (*HER1*, 131550); una proteína G (*H-RAS-1*, 190020); un transductor de señal (*BRAF*, 164757); un factor de transcripción (*MYC*, 190080); una tirosina cinasa involucrada en la adhesión entre una célula y otra (*SRC* , 190090); un regulador del ciclo celular (*PRAD,* 168461), y un regulador de la apoptosis (*BCL2*, 151430).

para alterar la transcripción o para desregular el ciclo celular. Aun otros pueden afectar interacciones entre una célula y otra, o el proceso de la apoptosis. Estos mecanismos ayudan a explicar muchas de las características principales de las células cancerosas que se muestran en la figura 55-1, como su potencial de replicación ilimitado, sus defectos de emisión de señales, su capacidad para invadir y diseminarse, y su evasión de la apoptosis.

Ciertos **virus tumorales** (p. ej., retrovirus) **contienen oncogenes**. Fue el estudio de esos virus (p. ej., el virus del sarcoma de Rous [RSV], un retrovirus) lo que reveló la presencia de oncogenes. El estudio adicional mostró que los oncogenes virales se derivaban de protooncogenes celulares que los virus tumorales habían captado durante su paso por células huésped.

Los genes supresores tumorales actúan para inhibir el crecimiento y la división celulares

Un **gen supresor tumoral** produce un producto proteínico que en circunstancias normales suprime el crecimiento o la división celular. Cuando un gen de ese tipo se altera por mutación, el efecto inhibidor de su producto se pierde o disminuye, lo que lleva a incremento del crecimiento o la división celular. Como lo

CUADRO 55–5 Algunas diferencias entre oncogenes y genes supresores tumorales

Oncogenes	Genes supresores tumorales
La mutación en uno de los dos alelos es suficiente	Ambos alelos deben estar afectados
Ganancia de función de una proteína que emite señales para la división celular	Pérdida de función de una proteína
La mutación surge en células somáticas, no es hereditaria	Mutación presente en células germinales (puede heredarse), o en células somáticas
Algo de preferencia por tejido	A menudo hay fuerte preferencia por tejido (p. ej., efecto del gen *RB* en la retina)

Datos tomados de Levine AJ: The p53 tumor suppressor gene. N Engl J Med 1992;326:1350.

sugirió por vez primera AG Knudson, con base en estudios de la herencia de retinoblastomas, debe haber afección de ambas copias de un gen supresor tumoral para que pierda sus efectos inhibidores sobre el crecimiento.

Se ha hecho una distinción útil entre funciones de **guardabarrera** y **cuidador** de genes supresores **tumorales**. La primera **controla la proliferación celular**, e incluye principalmente genes que actúan para **regular el ciclo celular y la apoptosis**. La segunda se relaciona con la **preservación de la integridad del genoma**, e incluye genes cuyos productos están involucrados en el reconocimiento de **daño del DNA** y la **corrección** del mismo, y en el mantenimiento de la **integridad cromosómica** durante la división celular. Ahora se han identificado muchos oncogenes y genes supresores tumorales. Aquí sólo se mencionan algunos. En el **cuadro 55-5** se listan algunas diferencias entre oncogenes y genes supresores tumorales.

En el **cuadro 55-6** se listan algunas de las propiedades de dos de los oncogenes más estudiados (*MYC* y *RAS*) y dos de los genes supresores tumorales más estudiados (*P53* y *RB*).

Estudios sobre la formación de cánceres colorrectales han aclarado las participaciones de oncogenes y genes supresores tumorales específicos

Se han analizado muchos tipos de tumores en cuanto a cambios genéticos. Una de las áreas más informativas a este respecto han sido los análisis de la **formación de cánceres colorrectales** por Vogelstein y colegas. Su investigación, y la de otros, han mostrado la participación de diversos oncogenes y genes supresores tumorales en cáncer de seres humanos. (En el caso 4 en el cap. 57 se describe el caso de un paciente con cáncer colorrectal.) Estos investigadores analizaron diversos oncogenes, genes supresores tumorales y ciertos otros genes importantes en muestras de **epitelio de colon normal**, de **epitelio displásico** (un padecimiento preneoplásico, caracterizado por desarrollo anormal de epitelio), de diversos estadios de **pólipos adenomatosos**, y de **adenocarcinomas**. En la **figura 55-10** se resumen algunos de los datos principales que obtuvieron. Puede observarse que se encontró que ciertos genes están mutados a estadios relativamente específicos de la secuencia total mostrada. En el **cuadro 55-7** se listan las funciones de los diversos genes identificados. La **secuencia general** de cambios puede variar un poco respecto a la mostrada, y otros genes también pueden estar involucrados. Se han realizado estudios similares en varios **otros tumores de seres humanos**, y han revelado patrones de activación de oncogenes, y mutaciones de genes supresores tumorales, un poco diferentes. Las mutaciones adicionales en estos genes y en otros están involucradas en la **progresión tumoral**, un fenómeno por el cual **clonas** de células tumorales quedan seleccionadas para tasa de crecimiento rápido y capacidad para diseminarse. Así, un tumor relativamente grande puede contener diversas células con diferentes genotipos, lo que hace más difícil el tratamiento exitoso.

CUADRO 55–6 Algunas propiedades de algunos oncogenes y genes supresores tumorales importantes

Nombre	Propiedades
MYC	Un oncogén (OMIM 190080) que codifica para un factor de unión a DNA que puede alterar la transcripción. Involucrado en el crecimiento celular, la progresión del ciclo celular y la replicación del DNA. Está mutado en diversos tumores.
P53	Un gen supresor tumoral (OMIM 191170) que muestra respuesta a diversos estreses celulares. Induce paro del ciclo celular, apoptosis, senescencia, reparación del DNA, y está involucrado en algunos aspectos de la regulación del metabolismo celular. Se ha nombrado "el guardián del genoma". Está mutado en alrededor de 50% de los tumores de seres humanos. La nomenclatura *P53* se refiere a la masa molecular aproximada de la proteína codificada por *P53,* como se calcula a partir de SDS-PAGE.
RAS	Familia de oncogenes que codifican para las GTPasas pequeñas. Inicialmente se identificaron como los genes transformadores de ciertos virus del sarcoma murino. Los miembros importantes de la familia son K-RAS (Kirsten), H-RAS (Harvey) (OMIM 190020) y N-RAS (neuroblastoma). La activación persistente de estos genes debido a mutaciones contribuye a la aparición de diversos cánceres.
RB	Un gen supresor tumoral (OMIM 180200) que codifica para la proteína RB. La RB regula el ciclo celular al unirse al factor de alargamiento E2F. Reprime la transcripción de diversos genes involucrados en la fase S del ciclo. La mutación del gen *RB* es la causa del retinoblastoma, pero también está involucrada en la génesis de algunos otros tumores.

Pueden hacerse varias otras inferencias a partir de estos resultados y de los de otros estudios similares. La primera de éstas es que el cáncer en realidad es una **enfermedad genética**, pero en un sentido un poco diferente del significado normal de la frase, en la medida en que muchas de las alteraciones de genes se deben a mutaciones somáticas. En segundo lugar, como se mencionó, la carcinogénesis es un **proceso de múltiples pasos**. Se estima que casi siempre debe haber mutación de un mínimo de cinco a seis genes para que ocurra cáncer. En tercer lugar, se cree que mutaciones subsiguientes adicionales confieren ventajas selectivas a **clonas** de células, algunas de las cuales adquieren la capacidad para metastatizar exitosamente (véase más adelante). En cuarto lugar, muchos de los genes implicados en la carcinogénesis colorrectal y en otros tipos de cánceres están involucra-

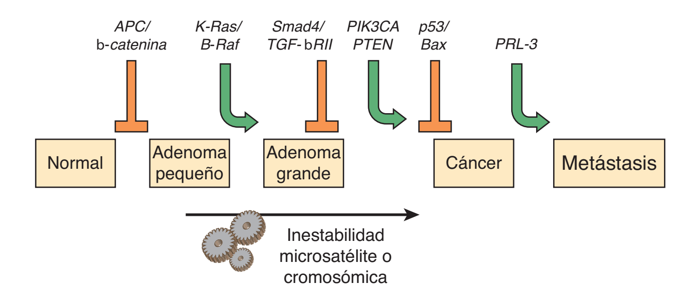


FIGURA 55–10 Cambios genéticos de múltiples pasos asociados con la aparición de cánceres colorrectales. Mutaciones en el gen *APC* inician la formación de adenomas. Se indica una secuencia de mutaciones en un oncogén y en diversos genes supresores tumorales puede dar lugar a progresión adicional hacia adenomas grandes y cáncer. Los pacientes con poliposis adenomatosa familiar (OMIM 175100) heredan mutaciones en el gen *APC* y desarrollan muchos focos de criptas aberrantes (ACF) displásicos, algunos de los cuales progresan conforme adquieren las otras mutaciones indicadas en la figura. Los tumores de pacientes con cáncer de colon hereditario sin poliposis (OMIM 120435) pasan por una serie de mutaciones similares aunque no idénticas; las mutaciones en el sistema de reparación de errores de emparejamiento (cap. 35) aceleran este proceso. *K-RAS* es un oncogén, y los otros genes específicos indicados son genes supresores tumorales. Se conocen las ubicaciones cromosómicas de los diversos genes aquí mostrados. La secuencia de eventos que se muestra aquí es variable en la aparición de todos los cánceres colorrectales. Se han descrito varias otras alteraciones genéticas en una pequeña fracción de cánceres colorrectales avanzados, mismas que pueden ser la causa de la heterogeneidad de las propiedades biológicas y clínicas observadas entre diferentes casos. En muchos tumores ocurre inestabilidad de cromosomas y de microsatélites (cap. 35), y probablemente involucra mutaciones en un número considerable de genes. (Reproducida, con autorización, de Bunz F, Kinzler KW, Vogelstein B: Colorectal Tumors, Fig. 48-2, The Online Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease, www.ommbid.com)

dos en **eventos de emisión de señales celulares**, lo que muestra el papel fundamental que desempeñan las alteraciones de la emisión de señales en la aparición de cáncer.

LOS FACTORES DE CRECIMIENTO Y LAS ANORMALIDADES DE SUS RECEPTORES Y VÍAS DE EMISIÓN DE SEÑALES DESEMPEÑAN FUNCIONES IMPORTANTES EN LA APARICIÓN DE CÁNCER

Hay muchos factores de crecimiento

Se ha identificado una gran variedad de factores de crecimiento polipeptídicos que funcionan sobre tejidos y células del ser humano. Algunos se listan en el **cuadro 55-8**. Esta exposición se enfoca en su relación con el cáncer.

Los factores de crecimiento pueden actuar de una manera **endocrina**, **paracrina** o **autocrina**, y afectar una amplia variedad de células para producir una **respuesta mitogénica**. Como se describió (cap. 52), desempeñan un papel importante en la diferenciación de células hematopoyéticas.

CUADRO 55–7 Algunos genes asociados con carcinogénesis colorrectal

Gen[1]	Acción de la proteína codificada
APC (OMIM 611731)	Antagoniza emisión de señales WNT;[2] si está mutado, la emisión de señales WNT está aumentada, lo que estimula el crecimiento celular
β-CATENINA (OMIM 116806)	Codifica para β-catenina, una proteína presente en uniones adherentes, que tienen importancia en la integridad de tejidos epiteliales
K-RAS (OMIM 601599)	Involucrado en la emisión de señales de tirosina cinasa
BRAF (OMIM 164757)	Una serina/treonina cinasa
SMAD4 (OMIM 600993)	Afecta la emisión de señales por el factor de crecimiento transformante-β (TGF-β)
TGF-βRII	Actúa como un receptor para TGF-β[3]
PI3KCA (OMIM 171834)	Actúa como una subunidad catalítica de la fosfatidilinositol 3-cinasa
PTEN (OMIM 601728)	Una proteína tirosina fosfatasa con un área de homología con la tensina, una proteína que interactúa con filamentos de actina en adhesiones focales
P53 (OMIM 191170)	El producto, P53, es inducido en respuesta a daño de DNA, y es también un factor de transcripción para muchos genes involucrados en la división celular (cuadro 55-10)
BAX (OMIM 600040)	Actúa para inducir muerte celular (apoptosis)
PRL3 (OMIM 606449)	Una proteína-tirosina fosfatasa

Abreviaturas: APC, gen del cual depende la poliposis adenomatosa del colon; *BAX,* codifica para proteína X asociada a BCL2 (BCL2 es un represor de la apoptosis); *BRAF,* el homólogo humano de un protooncogén aviar; *K-RAS,* gen asociado con Kirsten-Ras; *PI3KCA,* codifica para la subunidad catalítica de la fosfatidilinositol 3-cinasa; *PRL3,* codifica para una proteína-tirosina fosfatasa con homología con PRL1, otra proteína-tirosina fosfatasa que se encuentra en el hígado en regeneración; *PTEN,* codifica para una proteína-tirosina fosfatasa y homólogo de tensina; *P53,* codifica para un polipéptido de masa molecular de 53 000; *SMAD4,* el homólogo de un gen que se encuentra en *Drosophila.*

Nota: los diversos genes listados son oncogenes, genes supresores tumorales o genes cuyos productos están estrechamente asociados con los productos de estos dos tipos de genes. Los efectos acumulativos de las mutaciones en los genes listados son impulsar las células epiteliales del colon para que proliferen y finalmente se hagan cancerosas. Logran esto principalmente por medio de efectos sobre diversas vías de emisión de señales que afectan la proliferación celular. También están involucrados otros genes y proteínas que no se listan aquí. Este cuadro y la figura 55-10 muestran vívidamente la importancia de un conocimiento detallado de la emisión de señales celulares para entender la génesis del cáncer.

[1] *K-RAS* y *BRAF* son oncogenes; los otros genes listados son genes supresores tumorales o genes cuyos productos están asociados con las acciones de los productos de los genes supresores tumorales.

[2] La familia WNT de glucoproteínas secretadas está involucrada en diversos procesos vinculados con el desarrollo. La tensina es una proteína que interactúa con filamentos de actina en adhesiones focales.

[3] El TGF-β es un polipéptido (un factor de crecimiento) que regula la proliferación y diferenciación en muchos tipos de células.

También hay **factores inhibidores de crecimiento**. Por ejemplo, el factor de crecimiento transformante-β (TGF-β) ejerce efectos inhibidores sobre el crecimiento de ciertas células. De este modo, la exposición crónica a cantidades aumentadas de un factor de crecimiento o a cantidades disminuidas de un factor inhibidor de crecimiento puede alterar el equilibrio del crecimiento celular.

CUADRO 55–8 Algunos factores de crecimiento polipeptídicos

Factor de crecimiento	Función
Factor de crecimiento epidérmico (EGF)	Estimula el crecimiento de muchas células epidérmicas y epiteliales
Eritropoyetina (EPO)	Regula el desarrollo de células eritropoyéticas tempranas
Factores de crecimiento de fibroblastos (FGF)	Promueve la proliferación de muchas células diferentes
Interleucinas	Las interleucinas ejercen diversos efectos sobre células del sistema inmunitario
Factor de crecimiento nervioso (NGF)	Efecto trófico sobre ciertas neuronas
Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)	Estimula el crecimiento de células mesenquimatosas y gliales
Factor de crecimiento transformante-α (TGF-α)	Similar al EGF
Factor de crecimiento transformante-β (TGF-β)	Ejerce efectos tanto estimuladores como inhibidores sobre ciertas células

Se han identificado muchos otros factores de crecimiento. Los factores de crecimiento pueden ser sintetizados por diversas células, o tener principalmente una fuente. Ahora se han aislado muchas interleucinas diferentes; junto con los interferones y algunas otras proteínas/polipéptidos, se denominan citocinas.

Los factores de crecimiento funcionan por medio de receptores y emisión de señales transmembrana específicos para afectar las actividades de genes específicos

Los factores de crecimiento producen sus efectos al interactuar con **receptores específicos** sobre la superficie de células, lo que inicia diversos **eventos de emisión de señales** (cap. 42). Se han clonado muchos receptores de factores de crecimiento. Por lo general tienen segmentos cortos que abarcan la membrana y dominios externos y citoplásmicos. Varios (p. ej., aquellos para el factor de crecimiento epidérmico [EGF], insulina y factor de crecimiento derivado de plaquetas [PDGF]) tienen actividades de **tirosina cinasa**. La actividad de cinasa, ubicada en los dominios citoplásmicos, causa autofosforilación de la proteína receptora, y fosforila también algunas otras proteínas.

La consideración de cómo actúa el **PDGF** ilustra cómo un factor de crecimiento particular desencadena sus efectos. La interacción del PDGF con su receptor estimula la actividad de la fosfolipasa C; ésta actúa para dividir el fosfatidilinositol bisfosfato (PIP_2) hacia inositol trifosfato (IP_3) y diacilglicerol (DAG) (figura 42-6). El IP_3 aumentado estimula la liberación de Ca_2^+ intracelular, y el DAG incrementa la actividad de la proteína cinasa C (PKC). La hidrólisis de DAG puede liberar ácido araquidónico, que puede estimular la producción de prostaglandinas y leucotrienos, cada uno de los cuales tiene diversos efectos biológicos. La exposición de células blanco al PDGF puede dar lugar a activación rápida (en minutos a 1 a 2 h) de ciertos protooncogenes celulares (p. ej., *MYC* y *FOS*), que participan en la estimulación de la mitosis por medio de efectos sobre el ciclo celular (véase más adelante). El resultado final es que los factores de crecimiento interactúan con receptores específicos, que estimulan vías de emisión de señales específicas para incrementar o disminuir las actividades de diversos genes que afectan la división celular.

CUADRO 55–9 Medidas que podrían evitar alrededor de 50% de los cánceres si se introdujeran en un ámbito de población

- Reducción del consumo de tabaco
- Aumento de la actividad física
- Control del peso
- Mejora de la dieta
- Limitación del consumo de alcohol
- Uso de prácticas de sexo más seguras
- Pruebas de detección de cánceres sistemáticas
- Evitación de la exposición excesiva a la luz solar

Datos tomados de Stein CJ, Colditz GA: Modifiable risk factors for cancer. Brit J Cancer 90:299 (2004).

MUCHOS CÁNCERES SE PUEDEN PREVENIR AL MODIFICAR FACTORES DE RIESGO

Factores de riesgo modificables se han correlacionado con una amplia variedad de cánceres. Se ha estimado que más de la mitad de los cánceres en países desarrollados podría evitarse si las medidas que se resumen en el **cuadro 55-9** se introdujeran en el ámbito de la población. El **tabaquismo** todavía es una causa importante de cáncer en todo el mundo. La **prevención** y la **detección temprana de cáncer** son de lo más crucial para abatir la enfermedad.

LAS ANORMALIDADES DEL CICLO CELULAR SON OMNIPRESENTES EN CÉLULAS CANCEROSAS

El conocimiento del **ciclo celular** es necesario para entender muchos de los mecanismos involucrados en la aparición de cáncer. También tiene importancia porque muchos fármacos anticáncer sólo actúan contra células que se están dividiendo, o en una cierta fase del ciclo.

En el capítulo 35 ya se describieron los aspectos básicos del ciclo celular. El ciclo tiene cuatro fases: G_1, S, G_2 y M (figura 35-20). Si las células no están pasando por ciclos, se dice que están en fase G_0, y se denominan quiescentes. Las células pueden ser reclutadas hacia el ciclo desde G_0 por diversas influencias (p. ej., ciertos factores de crecimiento). El tiempo de generación es el necesario para que una célula en G_0 entre en el ciclo y dé lugar a dos células hijas. Las células de un cáncer por lo general tienen un tiempo de generación más breve que las células normales, y hay menos de ellas en fase G_0.

En el capítulo 35 también se describieron los papeles de diversas **ciclinas**, **cinasas dependientes de ciclina** (CDK) y varias **otras moléculas importantes** que afectan el ciclo celular (p. ej.,

los genes *RB* y *P53*). En la figura 35-21 y el cuadro 35-7 se indican los puntos en el ciclo en los cuales actúan algunas de estas moléculas.

Puesto que una propiedad importante de las células cancerosas es el **crecimiento descontrolado**, muchos aspectos de su **ciclo celular** se han estudiado con profundidad considerable. Aquí sólo pueden mencionarse algunos resultados. Se han reportado varias mutaciones que afectan **ciclinas** y **CDK**. Muchos productos de **protooncogenes** y **genes supresores tumorales** desempeñan papeles importantes en la regulación del ciclo normal. Se ha encontrado una amplia variedad de mutaciones en estos tipos de genes, entre ellos *RAS, MYC, RB, P53* (que figuran entre los más estudiados, véase más adelante) y muchos otros.

Por ejemplo, el producto proteínico del **gen *RB*** es un regulador del ciclo celular (cap. 35). Actúa por medio de unión al factor de transcripción E2F, lo cual bloquea la progresión de la célula desde la fase G_1 hacia la S. Así, la pérdida de la proteína RB debido a mutaciones elimina este elemento de control del ciclo celular.

Cuando ocurre daño de DNA (p. ej., por radiación o sustancias químicas), la **proteína P53** aumenta de cantidad y activa la transcripción de genes que retrasan el tránsito por el ciclo. Si el daño es demasiado grande como para repararlo, P53 activa genes que causan apoptosis (véase más adelante). Si P53 falta o es inactiva debido a mutación, no ocurre apoptosis, y las células con DNA dañado persisten, y tal vez se conviertan en progenitoras de células cancerosas.

LA INESTABILIDAD GENÓMICA Y LA ANEUPLOIDIA SON CARACTERÍSTICAS IMPORTANTES DE LAS CÉLULAS CANCEROSAS

Como se mencionó, y como se señala más adelante en este capítulo, las células cancerosas tienen muchas mutaciones. Una posible explicación de su **inestabilidad genómica** es que tienen un **fenotipo mutador**. Originalmente, Loeb y colegas postularon que esto se debía a que las células cancerosas tienen alteraciones adquiridas en genes involucrados en la **replicación del DNA y la reparación del mismo**, lo que permite que se acumulen mutaciones. El concepto más tarde se expandió para incluir mutaciones que afectan la **segregación cromosómica**, **supervivencia al daño del DNA**, y procesos como **apoptosis**.

El término **inestabilidad genómica** a menudo se usa para hacer referencia a dos anormalidades mostradas por muchas células cancerosas, **inestabilidad de microsatélite** y **cromosómica** (**CI**). La **inestabilidad de microsatélite** se describió brevemente en el capítulo 35. Comprende expansión de microsatélites o contracción de los mismos, por lo general debido a anormalidades de reparación de errores de emparejamiento, o a deslizamiento de replicación. La **CI** ocurre con mayor frecuencia que la inestabilidad de microsatélite, y las dos suelen ser mutuamente excluyentes. Esto se refiere a la ganancia de cromosomas o pérdida de los mismos causada por anormalidades de la segregación cromosómica durante la mitosis.

Otra área de interés respecto a la CI es la **variación del número de copias** (CNV) (véase el glosario). Se han identificado asociaciones de diversas CNV con muchos cánceres, y se están investigando sus papeles precisos en el cáncer.

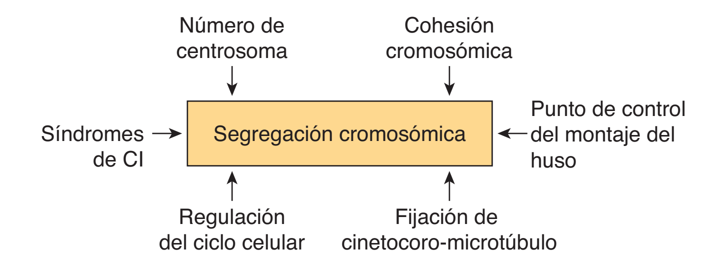


FIGURA 55–11 Algunos factores involucrados en la segregación cromosómica que son importantes para entender la inestabilidad cromosómica (CI) y la aneuploidia. Los síndromes de CI comprenden el síndrome de Bloom (OMIM 210900) y otros. (Basada en Thompson SL *et al*.: Mechanisms of chromosomal instability. Curr Biol 2010;20(6):R285.)

Un aspecto importante de la CI es la **aneuploidia**, una característica muy común de los tumores sólidos. Hay aneuploidia cuando el número de cromosomas de una célula no es un múltiplo del número haploide. El grado de aneuploidia a menudo se correlaciona con **mal pronóstico**. Esto ha sugerido que las anormalidades de la segregación cromosómica pueden contribuir a la progresión del tumor al aumentar la diversidad genética. Algunos científicos creen que la aneuploidia es un aspecto fundamental del cáncer.

Se está efectuando mucha investigación para determinar la base de la CI y de la aneuploidia. Varios procesos diferentes están involucrados en la segregación cromosómica normal (**figura 55-11**). Cada uno de los procesos mostrados es complejo; comprende diversos orgánulos y muchas proteínas individuales. El lector encontrará los detalles de estos procesos importantes en un tratado de biología celular. Se están efectuando estudios a fin de comparar estos procesos en células normales y tumorales, y para determinar cuáles de las diferencias detectadas pueden ser contribuidoras a CI y aneuploidia. Una esperanza de esta línea de investigación es que tal vez sería posible **crear fármacos** que disminuyan CI y aneuploidia o que incluso las eviten.

MUCHAS CÉLULAS CANCEROSAS MUESTRAN ACTIVIDAD ALTA DE TELOMERASA

Ha habido considerable interés en la participación de los telómeros (cap. 35) en diversas enfermedades, y en el envejecimiento. Respecto al cáncer, cuando las células tumorales se dividen rápidamente, sus telómeros a menudo se acortan. Esos telómeros (que por lo general se detectan en leucocitos debido a la facilidad con la cual se obtienen) han quedado implicados como un factor de riesgo para muchos tumores sólidos, sino es que para todos (p. ej., cáncer mamario). Los **telómeros cortos** parecen tener valor predictivo respecto a la progresión de enfermedades inflamatorias crónicas (como colitis ulcerosa y esófago de Barrett) hacia cáncer. Las anormalidades de la estructura de los telómeros y de la función de los mismos pueden contribuir a CI (véase antes). La actividad de **telomerasa**, la principal enzima involucrada en la síntesis de telómeros, suele estar alta en células

CUADRO 55–10 Algunos padecimientos cancerosos hereditarios

Enfermedad	Gen	Principal función	Principal dato clínico
Poliposis adenomatosa del colon (OMIM 175100)	*APC*	Véase el cuadro 55-7	Formación de muchos pólipos adenomatosos de inicio temprano, que son precursores inmediatos de cánceres colorrectales
Cáncer mamario 1, inicio temprano (OMIM 113705)	*BRCA1*	Reparación de DNA	Alrededor de 5% de las mujeres en Norteamérica que padecen cáncer mamario porta mutaciones en este gen o en *BRCA2*. También aumenta considerablemente el riesgo de cáncer ovárico
Cáncer mamario 2, inicio temprano (OMIM 600185)	*BRCA2*	Reparación de DNA	Como se mencionó antes para el *BRCA1*. Las mutaciones en este gen también aumentan el riesgo de cáncer ovárico, pero en menor grado
Cáncer hereditario sin poliposis, tipo I (OMIM 120435)	*MSH2*	Reparación de errores de emparejamiento de DNA	Inicio temprano de cánceres colorrectales
Síndrome de Li-Fraumeni (OMIM 151623)	*P53*	Véase el cuadro 55-6	Un síndrome raro que comprende cánceres en diferentes sitios, que aparecen a una edad temprana
Neurofibromatosis, tipo 1 (OMIM 162200)	*NF1*	Codifica para la neurofibromina	Varía desde algunas manchas café con leche hasta la formación de miles de neurofibromas
Retinoblastoma (OMIM 180200)	*RB1*	Véase el cuadro 55-6	[1]Retinoblastoma hereditario o esporádico

Se han identificado muchos otros cánceres hereditarios.
[1] En el retinoblastoma hereditario, un alelo está mutado en la línea germinal, y sólo se requiere una mutación subsiguiente para que se forme un tumor. En el retinoblastoma esporádico, ni uno ni otro alelo está mutado en el momento del nacimiento, de modo que se requieren mutaciones subsiguientes en ambos alelos.

cancerosas, lo que proporciona un mecanismo para superar el acortamiento de telómero. Los inhibidores selectivos de la telomerasa se han considerado posibles fármacos para tratar cáncer, pero esto aún no se ha traducido en uso clínico exitoso.

EN VARIOS CÁNCERES HAY PREDISPOSICIÓN HEREDITARIA

Durante muchos años se ha sabido que ciertos cánceres tienen una base hereditaria. Se estima que alrededor de 5% de los cánceres cae dentro de esta categoría. El descubrimiento de oncogenes y de genes supresores tumorales ha permitido investigaciones de la base de este fenómeno. Ahora se han reconocido muchos tipos de cáncer hereditario; en el **cuadro 55-10** se listan sólo algunos de éstos. En varios casos, cuando se sospecha un síndrome hereditario, la investigación genética apropiada de familias ha permitido hacer intervenciones tempranas. Por ejemplo, algunas mujeres jóvenes que han heredado un gen *BRCA1* o *BRCA2* mutado han elegido mastectomía profiláctica para prevenir cáncer de mama en etapas más avanzadas de la vida.

LA SECUENCIACIÓN DE TODO EL GENOMA DE CÉLULAS TUMORALES BRINDA NUEVA INFORMACIÓN RESPECTO AL CÁNCER

Desde que se completó el *Human Genome Project*, la tecnología de la secuenciación a gran escala, y el análisis e interpretación de datos sobre secuencia, han avanzado considerablemente. La secuenciación se ha hecho mucho más económica. Esto ha llevado a estudios cuyo objetivo es **secuenciar por completo los genomas de un gran número de tipos diferentes de tumores**. De esta manera, finalmente quedará disponible un **catálogo** integral de los tipos y números de mutaciones que se encuentran en diversos tipos de cánceres. Se espera que esos estudios lleven a resultados que también tendrán repercusiones sobre las **pruebas diagnósticas** y orientarán hacia nuevos **biomarcadores pronósticos** útiles. También debe revelar la participación de **muchos genes nuevos** en la carcinogénesis, algunos de los cuales tal vez proporcionen guías respecto a nuevos métodos terapéuticos. Hasta la fecha, se han identificado **alrededor de 350 genes involucrados en el cáncer**; se ha predicho que tal vez existan hasta 2 000. Es en particular interesante identificar mutaciones en genes que causan cánceres y los aceleran; éstas se conocen como mutaciones **conductoras**, mientras que otras mutaciones se llaman mutaciones **pasajeras**.

Estudios sobre diversos tipos de cánceres ya han proporcionado resultados interesantes. Por ejemplo, en un estudio de DNA de una persona que sufría **leucemia mielocítica aguda**, se detectaron alrededor de 750 mutaciones somáticas. Sólo 12 de éstas estuvieron en genes que codificaban para proteínas o RNA reguladores; las mutaciones en ese tipo de genes tienen más probabilidades de tener efectos graves. (Las áreas codificadoras del genoma sólo ocupan alrededor de 2% del DNA genómico.) Las mutaciones en otros sitios del genoma pueden o no tener consecuencias. La secuenciación de todo el genoma en siete cánceres de próstata primarios del ser humano ha revelado la presencia de sorprendentemente muchos reordenamientos genómicos.

Los resultados de un estudio reciente de **carcinomas pancreáticos** proporcionan un ejemplo fascinante de la información que puede brindar la secuenciación del genoma de cánceres. Éstos figuran entre los cánceres más mortíferos. Sin embargo, un tema que no se ha resuelto es si su letalidad se debe a su **agresividad** (capacidad para emitir metástasis y crecer), o a **diagnóstico tardío**. En el estudio que se está considerando, los genomas de siete cánceres pancreáticos primarios se secuenciaron, al igual que los genomas de metástasis de ellos obtenidos en la autopsia. En cada metástasis se detectaron alrededor de 61

mutaciones relacionadas con cáncer conocidas. Usando una técnica de "reloj molecular" que se tomó prestada de la biología evolutiva, se calculó cuánto tiempo requirieron las metástasis para acumular estas mutaciones. El conocimiento previo de la secuencia general de mutaciones hizo posible esto. Se estimó que se requirieron **poco más de 10 años** desde el momento de la mutación iniciadora para que se desarrollaran tumores primarios no metastásicos en el páncreas. Se requirieron **otros cinco años** para que esos tumores adquirieran potencial metastásico. A partir de entonces, transcurrieron **aproximadamente dos años** antes de que los tumores metastatizaran y sobreviniera la muerte. Así, se sugirió que la evolución de muchos cánceres pancreáticos es **un proceso relativamente lento**, y que los cánceres pancreáticos no son muy agresivos. El problema es que son difíciles de diagnosticar. La esperanza es que métodos como la **detección de mutaciones en células de cáncer pancreático presentes en especímenes de heces**, la creación de **nuevos biomarcadores sanguíneos** para cánceres pancreáticos, y quizá **nuevas técnicas de obtención de imágenes** permitirán el **diagnóstico temprano**, siempre un factor crucial en el manejo del cáncer. Dentro de relativamente pocos años, deben estar disponibles **datos de secuencia completos** sobre los genomas de **muchos tipos importantes de tumores**, y se espera que aumenten considerablemente el entendimiento de los aspectos biológicos básicos del cáncer y que proporcionen información importante para mejor diseño de fármacos y tratamiento menos tóxico.

Se han emitido muchos reportes de afecciones de **micro RNA** en cáncer, distintos de los estudios de secuenciación de gen. Debido a su importancia en muchos aspectos del control de gen, el estudio de estas moléculas ya está formando un área importante de la investigación sobre el cáncer.

Varios cientos de tipos de cánceres se han identificado mediante estudios histopatológicos clásicos. Así, el **cáncer no es una enfermedad única**. El trabajo sobre la secuenciación del genoma de cánceres, que revela el gran número de mutaciones en células cancerosas, sugiere que tal vez no sólo haya cientos de cánceres diferentes, sino que **cada cáncer puede ser genéticamente distinto**.

LAS CÉLULAS CANCEROSAS TIENEN ANORMALIDADES DE LA APOPTOSIS QUE PROLONGAN SU VIDA

La apoptosis es un programa regulado por mecanismos genéticos que, cuando se activa, causa muerte celular. Los principales participantes son enzimas proteolíticas llamadas **caspasas**, que en circunstancias normales existen como **procaspasas** inactivas. El nombre **caspasa** refleja que son cisteína proteasas que dividen enlaces peptídicos en el extremo C terminal de residuos de aspartato. Se conocen alrededor de 15 caspasas del ser humano, aunque no todas participan en la apoptosis. Cuando las que están involucradas en la apoptosis (principalmente 2, 3, 6, 7, 8, 9 y 10) son activadas, participan en una **cascada** de eventos (compárese con la cascada de la coagulación, cap. 51) que finalmente mata las células por digestión de diversas proteínas y otras moléculas. Las caspasas **torrente arriba** (p. ej., 2, 8 y 10) al inicio de la cascada a menudo se llaman **iniciadoras**, y las que están torrente abajo en el extremo de la vía (p. ej., 3, 6 y 7) se llaman **efectoras** o **ejecutoras**. La **DNasa activada por caspasa** (CAD) fragmenta DNA, lo que produce un patrón a manera de peldaños característico que se detecta mediante electroforesis. Las **características microscópicas** de la apoptosis comprenden condensación de la cromatina, cambios de la forma del núcleo y formación de vacuolas en la membrana. Las células muertas son desechadas con rapidez mediante actividad fagocítica, lo que evita una reacción inflamatoria.

La apoptosis difiere de la **necrosis**, una forma patológica de muerte celular que no está programada genéticamente. La necrosis ocurre en el momento de la exposición a agentes externos, como ciertas sustancias químicas y calor extremo (p. ej., quemaduras). Diversas enzimas hidrolíticas (proteasas, fosfolipasas, nucleasas, etc.) participan en la necrosis. La liberación del contenido celular a partir de células que están muriendo puede causar inflamación local, a diferencia de la apoptosis.

El proceso general de la apoptosis es **complejo**, y es una "cuestión de vida o muerte" **estrechamente regulada**. Incluye proteínas que actúan como receptores, adaptadores, procaspasas y caspasas, y factores proapoptóticos y antiapoptóticos. Hay **vías extrínseca** e **intrínseca**; las **mitocondrias** son participantes importantes en la vía intrínseca.

En la **figura 55-12** se muestra un diagrama muy simplificado de algunos de los eventos clave en la apoptosis. Dos vías importantes se encuentran involucradas, la vía del receptor de muerte (extrínseca) y la vía mitocondrial (intrínseca).

Las principales características de la **vía del receptor de muerte** se muestran en el lado izquierdo de la figura. Las **señales externas** que inician la apoptosis comprenden la citocina factor de necrosis tumoral-α (TNF-α) y ligando FAS. Se han identificado varios receptores de muerte. Son proteínas transmembrana y algunas interactúan con **proteínas adaptadoras** (como FADD). A su vez, estos complejos interactúan con la **procaspasa-8**, lo que da lugar a su conversión en **caspasa-8** (una iniciadora). La **caspasa-3** (una efectora) es activada por medio de una serie de reacciones adicionales. Digiere proteínas estructurales importantes, como la lámina (esto se asocia con condensación nuclear), diversas proteínas del citoesqueleto, y enzimas involucradas en la reparación del DNA, lo que causa muerte celular.

La **regulación** de esta vía ocurre a varios niveles. La **FLIP** inhibe la conversión de procaspasa-8 en su forma activa. Los **inhibidores de la apoptosis** (IAP) inhiben la conversión de procaspasa-3 en su forma activa. Estos efectos pueden superarse mediante la proteína **SMAC**, que se libera a partir de mitocondrias.

La **vía mitocondrial** puede iniciarse mediante exposición a especies de oxígeno reactivas, daño de DNA y otros estímulos. Esto da por resultado la formación de poros en la membrana mitocondrial externa, a través de los cuales escapa **citocromo c** hacia el citoplasma. En el citoplasma, el citocromo c interactúa con **APAF-1**, **procaspasa-9** y **ATP** para formar un complejo multiproteínico conocido como un **apoptosoma**. Como resultado de esta interacción, la **procaspasa-9** es convertida en su forma activa y, a su vez, actúa sobre la **procaspasa-3** para producir **caspasa-3**. En cuanto a la **regulación**, la activación del **gen *P53*** regula en dirección ascendente la transcripción de ***BAX.*** El **BAX** es un proapoptótico, por cuanto causa pérdida del potencial de

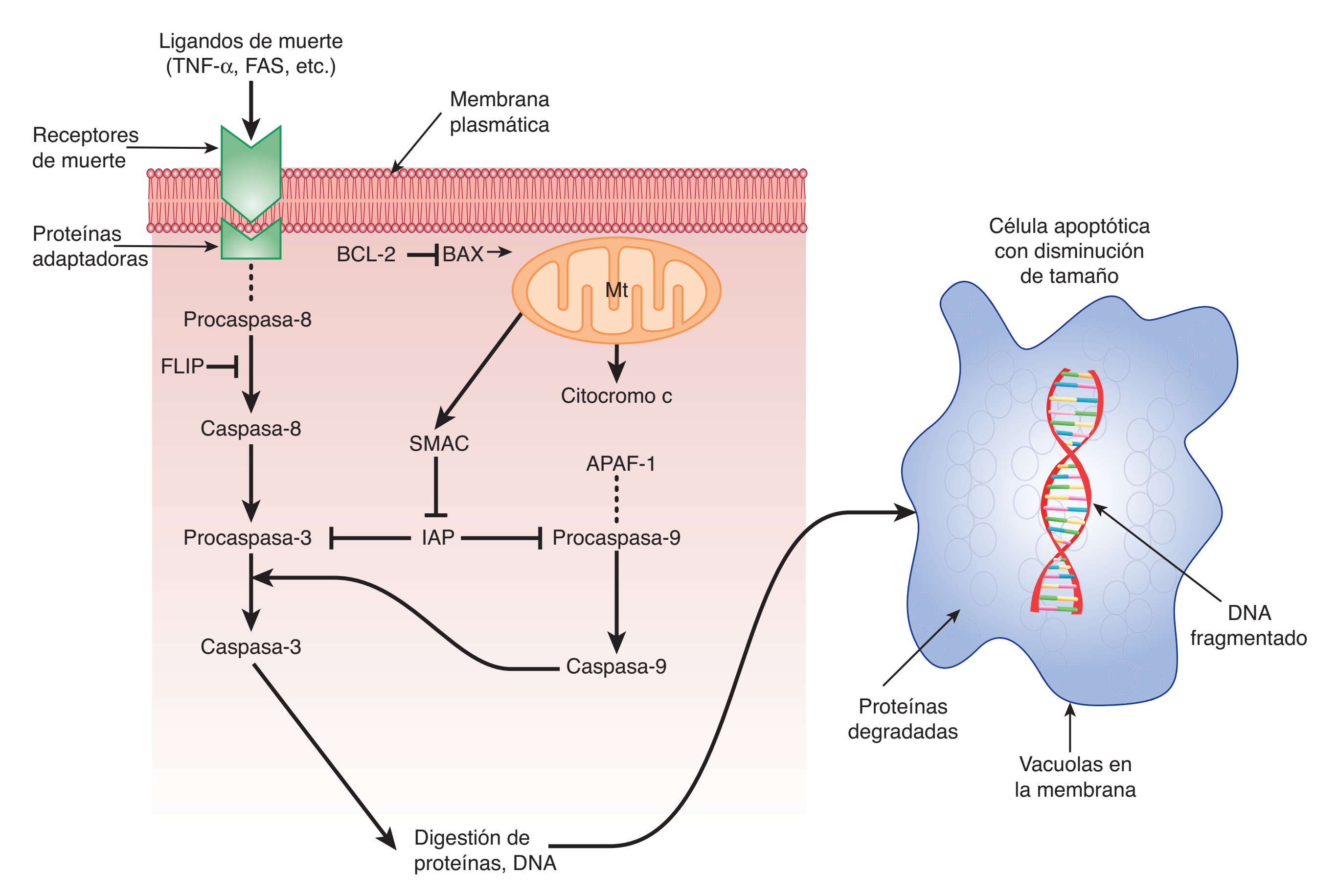


FIGURA 55–12 Esquema muy simplificado de la apoptosis. El lado izquierdo representa eventos importantes en la vía extrínseca. Las señales de muerte comprenden TNF-α y FAS (presentes en la superficie de linfocitos y algunas otras células). Las señales (ligandos) interactúan con receptores de muerte específicos (hay varios de ellos). A continuación, el receptor activado interactúa con una proteína adaptadora (FADD es una de varias de ellas), y después forma un complejo con la procaspasa 8. (El complejo es indicado mediante los ··· entre el receptor y la procaspasa-8 en la figura.) Por medio de una serie de pasos adicionales, se forma caspasa-3 activa, que es una efectora importante (ejecutora) de daño celular. La regulación de la vía extrínseca puede ocurrir debido a efecto inhibidor de FLIP sobre la conversión de procaspasa-8 en caspasa-8, y al efecto inhibidor de IAP sobre la procaspasa-3. El lado derecho representa eventos importantes en la vía intrínseca (mt). Diversos estreses celulares afectan la permeabilidad de la membrana externa mt, lo que da por resultado flujo de salida de citocromo c hacia el citoplasma. Esto forma un complejo multiproteínico con APAF-1 y procaspasa-9, llamado apoptosoma. Por medio de estas interacciones, la procaspasa-9 es convertida en caspasa-9 y ésta, a su vez, puede actuar sobre la procaspasa-3 para convertirla en su forma activa. La regulación de la vía intrínseca puede ocurrir en el ámbito de BAX, que facilita permeabilidad mt creciente, lo que permite el flujo de salida de citocromo c y, así, es proapoptótica. BCL-2 se opone a este efecto de BAX y, de este modo, es antiapoptótico. La IAP también inhibe la procaspasa-9, y este efecto de la IAP puede ser superado por SMAC. (APAF-1, factor activador de proteasa apoptótica-1; BAX, proteína X relacionada con BCL-2; BCL-2, CLL/linfoma de células B 2 (CLL representa leucemia linfocítica crónica); FADD, dominio de muerte asociado a FAS; FAS, antígeno FAS; FLICE, ICE parecida a FADD; FLIP, proteína inhibidora de FLICE; IAP, inhibidor de proteínas de la apoptosis; ICE, interleucina 1-β convertasa; SMAC, segundo activador de caspasa derivado de mitocondrias.) ⊣ significa que se opone a la acción de.

la membrana mitocondrial, lo que ayuda a iniciar la vía apoptótica mitocondrial. Por otro lado, **BCL-2** inhibe la pérdida del potencial de membrana y, así, es antiapoptótico. Los **IAP** inhiben la conversión de procaspasa-9 en caspasa-9; el **SMAC** puede superar esto.

Nótese que en la vía de muerte se usa **caspasa-8** como iniciadora, mientras que en la vía mitocondrial se usa **caspasa-9**. Estas dos vías pueden interactuar. Además, también hay otras vías de apoptosis que no se comentan aquí.

Las células cancerosas evaden la apoptosis

Las **células cancerosas** han desarrollado **maneras de evadir la apoptosis** y así, de continuar su crecimiento y división. En general, éstas dependen de mutaciones que causan pérdida de función de proteínas que son proapoptóticas, o de sobreexpresión de genes antiapoptóticos. Un ejemplo de ese tipo se refiere a la pérdida de la función del **gen *P53***, quizá el gen más comúnmente mutado en cánceres. La pérdida resultante de la regulación ascendente de ***BAX*** proapoptótica (véase antes) cambia el equilibrio a favor de proteínas antiapoptóticas. La **sobreexpresión** de muchos genes antiapoptóticos es un dato frecuente en cánceres. La evasión resultante de apoptosis favorece el crecimiento continuo de cánceres. Se está intentando crear **fármacos** u **otros compuestos** que activen de manera específica la apoptosis en células cancerosas, lo cual terminaría su lapso de vida.

Como se indicó, la apoptosis es una **vía compleja**, **multirregulada**, con muchos participantes, de los cuales no todos se mencionan en esta exposición simplificada. También está involucrada en diversos procesos vinculados con el desarrollo y fisiológicos. Quizá parezca paradójico, pero la muerte celular

CUADRO 55–11 Resumen de algunos puntos importantes respecto a la apoptosis

- Comprende una serie de eventos programados genéticamente, y difiere de la necrosis.
- Toda la serie de reacciones es una cascada, similar a la coagulación de la sangre.
- Se caracteriza por disminución del volumen de la célula, vacuolización de la membrana, ausencia de inflamación, y un patrón específico (a manera de peldaños) de degradación del DNA.
- Muchas caspasas (proteinasas) están involucradas; algunas son iniciadoras y otras efectoras (ejecutoras).
- Hay vías tanto externa como interna (mt).
- FAS y otros receptores están involucrados en la vía del receptor de muerte (externa) de la apoptosis.
- El estrés celular y otros factores activan la vía mt; la liberación de citocromo c hacia el citoplasma es un evento importante en esta vía.
- La apoptosis está regulada por un equilibrio entre inhibidores (antiapoptóticos) y activadores (proapoptóticos).
- Las células cancerosas han adquirido mutaciones que les permiten evadir la apoptosis, lo que prolonga su existencia.

regulada tiene tanta importancia en el mantenimiento de la salud como la formación de nuevas células. Además del cáncer, la apoptosis está implicada en otras enfermedades, incluso ciertos trastornos neurológicos autoinmunitarios y crónicos, como la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson, en las cuales la **muerte celular excesiva** (más que el crecimiento excesivo) es una característica.

En el **cuadro 55-11** se resumen algunas de las principales características de la apoptosis.

MECANISMOS EPIGENÉTICOS ESTÁN INVOLUCRADOS EN EL CÁNCER

Cada vez se tiene más evidencia de que hay mecanismos epigenéticos (cap. 36) involucrados en el origen del cáncer. La **metilación de bases citosina específicas** en genes está implicada en desactivación de las actividades de ciertos genes. En células cancerosas se han detectado cambios desde lo normal en la metilación/desmetilación de residuos citosina en genes específicos. Las **modificaciones postraduccionales de histonas**, como la acetilación, la metilación, la fosforilación y la ubiquitinación, también afectan la expresión de gen. En células cancerosas se han encontrado cambios de la **acetilación de histonas H3 y H4**, que afectan la transcripción de gen. Las mutaciones que afectan las estructuras de complejos proteínicos (p. ej., los complejos SW1/SNF) involucrados en el **remodelado de cromatina** también pueden afectar la transcripción de gen. De hecho, varios de los componentes de los complejos SW1/SNF pueden actuar como genes supresores tumorales. En la **figura 55-13** se resumen algunos de estos puntos acerca de la epigenética.

Un tema en particular interesante respecto a cambios epigenéticos es que muchos de ellos son en potencia **reversibles**. A

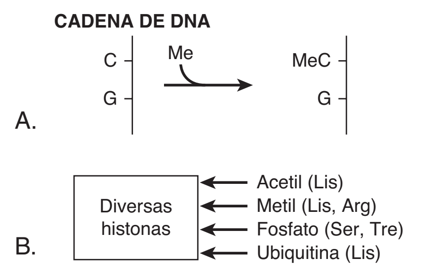


FIGURA 55–13 Algunos factores involucrados en la epigenética. A) Metilación de citosina para formar 5 metilcitosina. La citosina por lo general está ubicada cerca de un residuo guanina, lo que forma una isla CpG. La metilación de citosina por una metiltransferasa se asocia con silenciamiento de las actividades de ciertos genes. **B)** Modificaciones postraduccionales de diversas histonas. Residuos específicos en histonas específicas son modificados por diversas enzimas, lo cual cambia las conformaciones y las actividades de las histonas modificadas. Por ejemplo, la acetilación de lisinas N terminal en ciertas histonas se asocia con abertura de la cromatina y con aumento de la transcripción de ciertos genes. **C)** Remodelado de cromatina: véase la figura 36-10.

este respecto, la **5′ azadesoxicitidina** es un inhibidor de metiltransferasas, y el **ácido suberoilanilida hidroxámico** (SAHA, Vorinostat) actúa para desacetilar histonas. Estos dos agentes se han usado para tratar ciertos tipos de leucemia y linfomas.

El uso creciente de **técnicas de investigación** para estudiar cambios epigenéticos (p. ej., análisis del metiloma [la suma total de modificaciones por metilación en el genoma]) en más tipos de cánceres tiene probabilidades de contribuir considerablemente al conocimiento en esta área.

HAY MUCHO INTERÉS POR EL PAPEL DE LAS CÉLULAS MADRE EN EL CÁNCER

Las células madre se comentan brevemente en el capítulo 52. Muchos científicos están investigando el papel de células madre en el cáncer. Se cree que las células madre cancerosas albergan mutaciones que, sea por sí mismas o en colaboración con mutaciones adicionales, hacen cancerosas estas células. Pueden detectarse mediante el uso de marcadores de superficie específicos, u otras técnicas. Parece ser que los **tejidos circundantes** (p. ej., componentes de la matriz extracelular) pueden influir de manera importante sobre la conducta de estas células. Un concepto importante que impulsa parte de la investigación en esta área es la creencia de que una de las razones por las cuales la quimioterapia del cáncer a menudo fracasa es que existe **un fondo común de células madre cancerosas** que no es susceptible a la quimioterapia convencional. Las razones de esto incluyen los hechos de que muchas células madre son relativamente latentes, tienen sistemas de reparación de DNA activos, expresan transportadores de fármacos que pueden expulsar fármacos anticáncer, y a menudo muestran resistencia a la apoptosis.

Se está acumulando evidencia de que las células madre cancerosas de hecho desempeñan papeles clave en muchos tipos de neoplasias. De ser así, el desarrollo de terapias con especificidad alta para matar estas células resultará en extremo valioso.

LOS TUMORES A MENUDO ESTIMULAN LA ANGIOGÉNESIS

Las células tumorales necesitan un aporte sanguíneo suficiente que les proporcione nutrientes para su supervivencia. Se ha encontrado que tanto las células tumorales como las células de los tejidos que rodean a tumores **secretan factores** que estimulan el crecimiento de vasos sanguíneos nuevos (**angiogénesis**). La angiogénesis tumoral ha despertado mucho interés, en parte debido a que si pudiera inhibirse de manera específica, esto podría proporcionar un método selectivo para matar células tumorales.

El crecimiento de vasos sanguíneos que riegan células tumorales puede ser estimulado por **hipoxia** u otros factores. La hipoxia causa concentraciones altas de **factor inducible por hipoxia-1** (HIF-1), que a su vez incrementa la concentración de **factor de crecimiento del endotelio vascular** (VEGF), un estimulante importante de la angiogénesis. Se han identificado alrededor de **cinco tipos de VEGF** (A a E); casi todo el interés se enfoca en el VEGF A. Interactúan con receptores de tirosina cinasa específicos sobre células endoteliales y linfáticas. Estos receptores, por medio de vías de emisión de señales, causan regulación ascendente de la vía del NF-κB (cap. 50), lo que da lugar a proliferación de células endoteliales y formación de nuevos vasos sanguíneos. Los vasos sanguíneos que riegan tumores no son normales; su estructura suele estar desorganizada, y son mucho más débiles que los vasos sanguíneos normales. Moléculas que no son VEGF, como la angiopoyetina, el factor de crecimiento de fibroblastos-beta, el TGF-α y el factor de crecimiento placentario, también **estimulan la angiogénesis**. Algunas otras moléculas también **inhiben** el crecimiento de vasos sanguíneos (p. ej., angiogenina y endostatina).

Se han creado **anticuerpos monoclonales** contra VEGF A (p. ej., bevacizumab o avastatina), y se han usado en el tratamiento de ciertos tipos de cáncer (p. ej., colon y mama). Se unen al VEGF y evitan que actúe. Se encontró que aumentan la supervivencia general de pacientes, pero la mayoría de los pacientes con el tiempo presentó recaída. Se considera que es mejor usarlos en combinación con otras terapias anticáncer. También se están creando, y probando como terapéutica, anticuerpos monoclonales contra otros factores de crecimiento que estimulan la angiogénesis, al igual que inhibidores de la angiogénesis de molécula pequeña. Los inhibidores de la angiogénesis son útiles en **otras enfermedades**, como la degeneración macular "húmeda" relacionada con la edad y la retinopatía diabética, en las cuales la proliferación de vasos sanguíneos es una característica.

LAS METÁSTASIS SON EL ASPECTO MÁS GRAVE DEL CÁNCER

Se ha estimado que alrededor de **85% de la mortalidad** por cáncer se produce por metástasis. El cáncer en general se disemina por vasos linfáticos o sanguíneos. Las metástasis son un proceso complejo, y queda por elucidar su base molecular.

En la **figura 55-14** un esquema modificado de las metástasis. El evento más temprano es el **desprendimiento** de células

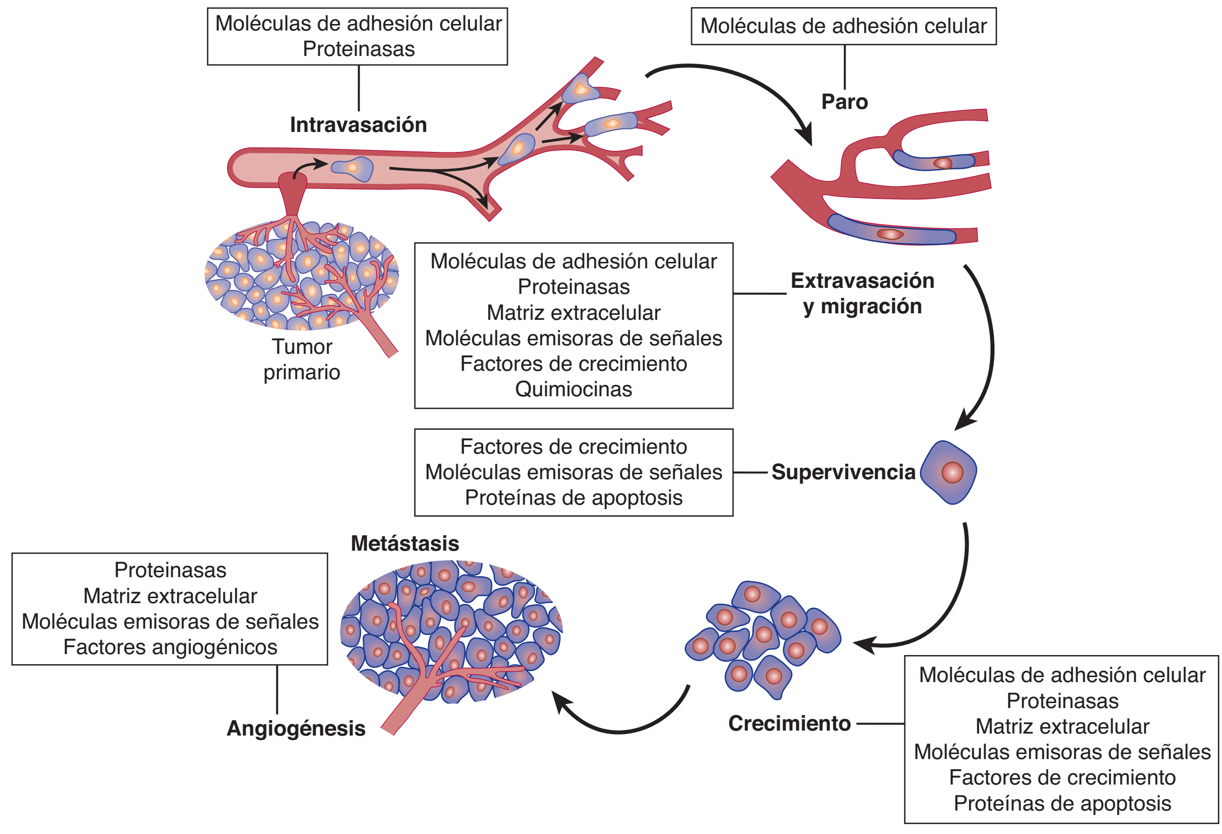


FIGURA 55–14 Esquema simplificado de metástasis. Representación esquemática de la secuencia de pasos en las metástasis; se indican algunos de los factores que se cree que están involucrados. Tomada de Tannock IF *et al*.: *The Basic Science of Oncology*. 4th ed. McGraw-Hill, 2005.

CUADRO 55–12 Algunas moléculas de adhesión celular (CAM) importantes

• Cadherinas
• Superfamilia de la inmunoglobulina (Ig) (CAM Ig)
• Integrinas
• Selectinas

Las CAM pueden ser homofílicas o heterofílicas. Las CAM homofílicas interactúan con moléculas idénticas en células vecinas, mientras que las CAM heterofílicas interactúan con diferentes moléculas. Las cadherinas son homofílicas, las selectinas e integrinas son heterofílicas, y las CAM Ig pueden ser una u otra. Las integrinas se comentan brevemente en el capítulo 52, y las selectinas en el capítulo 47.

tumorales desde el tumor primario. Las células pueden tener acceso entonces a la circulación (o a linfáticos), proceso que se denomina **intravasación**. Una vez en la circulación, tienden a **detenerse** en el lecho capilar pequeño más cercano. En ese sitio, se **extravasan** y **migran** a través de la matriz extracelular (ECM) vecina, antes de encontrar un sitio para establecerse. A partir de entonces, si **sobreviven** a los mecanismos de defensa del huésped, **crecen** a tasas variables. Para asegurar el crecimiento, necesitan **suficiente riego sanguíneo**, como se comentó. Algunos aspectos de estos eventos ahora se comentan con mayor detalle.

En muchos estudios **se han mostrado cambios desde lo normal de moléculas** sobre la superficie de células cancerosas. Estos cambios pueden permitir **adhesión celular disminuida**, y permitir que células individuales se desprendan del cáncer original. Las moléculas sobre superficies celulares involucradas en la adhesión celular se llaman **moléculas de adhesión celular** (CAM) (**cuadro 55-12**). Decrementos de las cantidades de **E-cadherina**, una molécula de gran importancia en la adhesión de muchas células normales, pueden ayudar a explicar la agresividad disminuida de muchas células cancerosas. En muchos estudios se han mostrado cambios de las **cadenas de oligosacárido de glucoproteínas de superficie celular**, debido a actividad alterada de diversas glucosiltransferasas (cap. 47). Un cambio importante es un aumento de la actividad de la **GlcNAc transferasa V**. Esta enzima cataliza la transferencia de GlcNAc a una cadena de oligosacárido en crecimiento, lo que forma un enlace $\beta 1 \geq 6$ y permite el crecimiento adicional de la cadena. Se ha propuesto que esas cadenas alargadas participan en un **enrejado de glucano alterado** en la superficie celular. Esto puede causar reorganización estructural de receptores y otras moléculas, lo que tal vez predispone a la diseminación de células cancerosas.

Una propiedad importante de muchas células cancerosas es que pueden liberar diversas **proteinasas** hacia la ECM. De las cuatro clases principales de proteinasas (serina proteinasa, cisteína proteinasa, aspartato proteinasa y metaloproteinasa), se ha enfocado particular interés en las metaloproteinasas (MP) que constituyen una familia muy grande de enzimas dependientes de metal (generalmente cinc). En varios estudios se ha mostrado actividad aumentada de **MP** en tumores, como MP-2 y MP-9 (también conocidas como gelatinasas). Estas enzimas tienen la capacidad de degradar proteínas en la membrana basal y en la ECM, como colágeno y otras, lo que facilita la diseminación de células tumorales. Se han creado inhibidores de estas enzimas, pero hasta ahora éstos no han tenido éxito clínico alguno.

Un factor que permite movimiento aumentado de células cancerosas es la **transición mesenquimatosa epitelial**. Éste es un cambio de la morfología y la función celulares desde tipo epitelial hacia tipo mesenquimatoso, tal vez inducido por factores de crecimiento. El tipo mesenquimatoso tiene más filamentos de actina, lo que permite movimiento aumentado, una propiedad esencial de las células que metastatizan.

La **ECM** desempeña un papel importante en las metástasis. Hay evidencia de **comunicación** mediante mecanismos de emisión de señales entre células cancerosas y células de la ECM. Los **tipos de células** en la ECM también pueden causar metástasis. Como se mencionó, las **proteinasas** que degradan proteínas en la ECM pueden facilitar la diseminación de células cancerosas. Además, la ECM contiene diversos **factores de crecimiento** que pueden influir sobre la conducta del tumor.

Durante su desplazamiento por el organismo, las células tumorales quedan expuestas a diversas células del **sistema inmunitario** (como células T, células NK y macrófagos) y deben tener la capacidad de sobrevivir a la exposición a ellas. Algunas de estas células de vigilancia secretan diversas **quimocinas**, proteínas pequeñas que pueden atraer diversas células, como leucocitos, lo que a veces causa una respuesta inflamatoria a las células tumorales.

Se ha estimado que sólo alrededor de 1:10 000 células puede tener la **capacidad genética** para colonizar exitosamente. Ciertas células tumorales muestran predilección a **metastatizar hacia órganos específicos** (p. ej., las células prostáticas hacia hueso); moléculas de superficie celular específicas quizá estén involucradas en este tropismo.

En varios estudios se ha mostrado que **ciertos genes aumentan las metástasis**, mientras otros actúan como **genes supresores de metástasis**. La manera exacta en que estos genes funcionan es el tema de estudios que se encuentran en proceso. Sin embargo, su existencia suscita la posibilidad de que aumentar la expresión de un gen supresor tumoral mediante un fármaco u otro método podría generar beneficio terapéutico.

En el **cuadro 55-13** se resumen algunos puntos importantes respecto a las metástasis.

CUADRO 55–13 Algunos puntos importantes respecto a las metástasis

• A menudo se encuentra una transición de células epiteliales-mesenquimatosas en cánceres, lo que permite movimiento aumentado de células en potencia metastásicas.
• La metástasis es relativamente ineficiente (sólo alrededor de 1:10 000 células tumorales puede tener potencial genético para colonizar).
• Las células metastásicas deben evadir diversas células del sistema inmunitario para sobrevivir.
• Están involucrados cambios en las moléculas de superficie celular (p. ej., CAM y otras).
• La actividad de proteinasa aumentada (p. ej., MP-2 y MP-9) facilita la invasión.
• Se ha mostrado la existencia de genes aumentadores y supresores de metástasis.
• Algunas células cancerosas metastatizan de preferencia hacia órganos específicos.
• Pueden detectarse "firmas" de gen del cual dependen metástasis mediante análisis de microarreglo de gen; pueden tener valor pronóstico.

Abreviaturas: CAM, molécula de adhesión celular; MP, metaloproteinasa.

LAS CÉLULAS CANCEROSAS MUESTRAN UNA TASA ALTA DE GLUCÓLISIS AERÓBICA

Muchos aspectos del **metabolismo** (p. ej., de carbohidratos, lípidos, aminoácidos y ácidos nucleicos) de células cancerosas se están estudiando. Un método actual es el análisis de sangre y orina mediante **espectrometría de masa** para buscar alteraciones del perfil de metabolitos que puedan **ayudar a detectar cáncer a un estadio temprano**. Sólo se describirán algunos de los estudios realizados sobre el metabolismo de la glucosa.

La **glucosa** y el aminoácido **glutamina** son dos de los metabolitos más abundantes en el plasma, y juntos explican gran parte del metabolismo del carbono y el nitrógeno en células del ser humano. Durante el decenio de 1920-1929, el bioquímico alemán Otto Warburg y sus colegas hicieron un descubrimiento de gran influencia respecto a las propiedades bioquímicas de las células cancerosas. Encontraron que dichas células captan grandes cantidades de **glucosa** y la metabolizan hacia ácido láctico, incluso en presencia de oxígeno (el llamado **efecto Warburg**). Las razones de esta **tasa alta de glucólisis aeróbica** aún se están investigando. Warburg postuló que podría deberse a un **defecto de la cadena respiratoria**, de modo que las células tumorales compensaron esto al producir más ATP mediante glucólisis. En investigaciones subsiguientes se han encontrado varias otras explicaciones, entre ellas que las células tumorales tienen **menos mitocondrias** que las células normales, y que contienen una **isozima de hexocinasa** (**HK-2**) unida a mitocondrias que no está sujeta a control por retroacción, lo que permite captación aumentada de glucosa. Investigación reciente se ha enfocado en el dato de que las células tumorales muestran **una isozima diferente de la piruvato cinasa** (PK) (cap. 18). Las células normales contienen PK-1, y las células tumorales contienen PK-2; se producen por empalme alternativo del mismo producto de gen. Por razones complejas que quedan por elucidar por completo, este cambio del perfil de isozima se asocia con, o lleva a, **menor producción de ATP** (**figura 55-15**). También se cree que permiten uso aumentado de metabolitos proporcionados por la glucólisis para **construir la biomasa** (proteínas, lípidos, ácidos nucleicos, etc.) requerida para la proliferación de células cancerosas. Esto ofrece una explicación para la probable ventaja selectiva conferida a células tumorales al tener una tasa alta de glucólisis.

A pesar de la angiogénesis, muchos tumores sólidos tienen áreas localizadas de **riego sanguíneo inadecuado** y, así, muestran tasas altas de **glucólisis anaeróbica**. Esto lleva a producción excesiva de ácido láctico y **acidosis** local. Se ha postulado que la producción local de ácido tal vez permita a las células tumorales invadir con mayor facilidad. La **tensión de oxígeno baja** en áreas de tumores con riego sanguíneo inadecuado estimula la formación de factor inducible por hipoxia-1 (HIF-1). Este factor de transcripción, cuya actividad se despierta por tensión de oxígeno baja, regula en dirección ascendente —entre otras acciones— las actividades de al menos ocho genes que controlan la síntesis de enzimas glucolíticas.

El **pH** y la **tensión de oxígeno** en tumores son factores importantes que afectan las acciones de fármacos anticáncer y otros tratamientos. Por ejemplo, la eficacia anticáncer de la radioterapia de cánceres es significativamente más baja en condiciones de hipoxia. Se han creado sustancias químicas para **inhibir la glucólisis** en células tumorales, y quizá matarlas de manera selectiva (**cuadro 55-14**). Aunque en estudios preclínicos se ha encontrado que tienen eficacia variable, hasta ahora ninguna de ellas ha alcanzado gran uso clínico. Incluyen **3-bromopiruvato** (un inhibidor de HK-2) y **2-desoxi-D-glucosa** (un inhibidor de HK-1). Otro compuesto, el **dicloroacetato** (DCA), inhibe la actividad de la piruvato deshidrogenasa cinasa y, así, estimula la actividad de la piruvato deshidrogenasa (cap. 18), lo que desvía el sustrato desde glucólisis hacia el ciclo del ácido cítrico. Hasta ahora, ninguno de éstos ha alcanzado gran uso clínico.

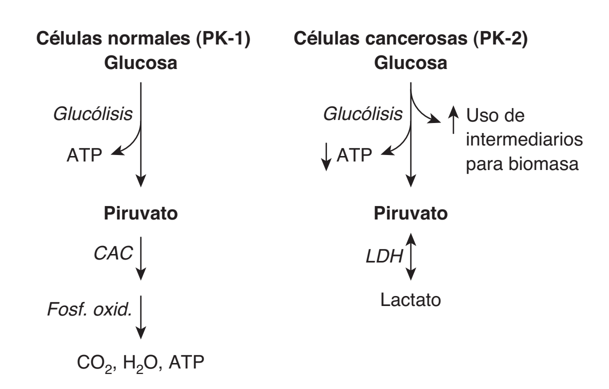


FIGURA 55–15 **Isozimas de la piruvato cinasa y glucólisis en células normales y células cancerosas.** En células normales, la principal fuente de ATP es la fosforilación oxidativa. Se obtiene algo de ATP a partir de la glucólisis. La principal isozima de la piruvato cinasa (PK) en células normales es la PK-1. En células cancerosas, la glucólisis aeróbica es prominente; se produce ácido láctico por medio de la acción de la lactato deshidrogenasa (LDH) y la producción de ATP a partir de la fosforilación oxidativa está disminuida (no se muestra en la figura). En células cancerosas, la PK-2 es la principal isozima de la PK. Por razones complejas que todavía no se entienden por completo, este cambio del perfil de isozima en células cancerosas se asocia con decremento de la producción neta de ATP a partir de la glucólisis, pero uso aumentado de metabolitos para construir biomasa. (CAC, ciclo del ácido cítrico; Fosf. oxid., fosforilación oxidativa.)

LAS MITOCONDRIAS MUESTRAN ALTERACIONES EN LAS CÉLULAS CANCEROSAS

Las **mitocondrias** están involucradas en diversos aspectos del cáncer. Ya se mencionó la posibilidad de que un **número dismi-**

CUADRO 55–14 **Algunos compuestos que inhiben la glucólisis y que se ha encontrado que muestran actividad anticáncer variable**

Compuesto	Enzima inhibida
3-Bromopiruvato	Hexocinasa II
2-Desoxi-D-glucosa	Hexocinasa I
Dicloroacetato	Piruvato deshidrogenasa cinasa
Yodoacetato	Gliceraldehído fosfato deshidrogenasa

La lógica para la creación de estos agentes es que la glucólisis por lo general es mucho más activa en células tumorales, de modo que inhibirla puede dañarlas más que a las células normales. La inhibición de la piruvato deshidrogenasa (PDH) cinasa da lugar a estimulación de la PDH, lo que desvía el piruvato de la glucólisis.

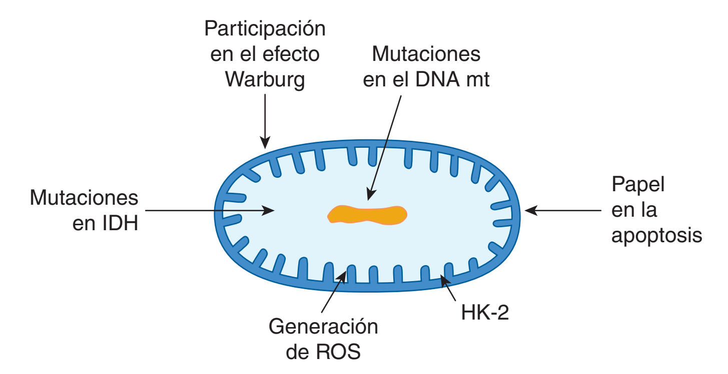


FIGURA 55–16 Algunas participaciones de las mitocondrias en el cáncer. Las mitocondrias están involucradas de varias maneras en el cáncer, no todas las cuales se muestran aquí. Las posibles explicaciones del efecto Warburg se comentan en el texto. Se encuentran mutaciones en mtDNA en células cancerosas, aunque su importancia no se entiende por completo. Las mitocondrias desempeñan un papel importante en la apoptosis; la liberación de citocromo c hacia el citoplasma es un evento importante. Muchas células cancerosas tienen una isozima de hexocinasa (HK-2) que desempeña un papel en la captación aumentada de glucosa por células tumorales. Se generan especies de oxígeno reactivas (ROS) en mitocondrias, y pueden ser importantes en la causa de mutaciones. En estudios recientes se ha mostrado que ciertas células tumorales tienen una isozima anormal de la isocitrato deshidrogenasa (IDH), cuya importancia se está estudiando.

nuido de mitocondrias esté involucrado en el efecto Warburg en células cancerosas. Las mitocondrias generan **especies de oxígeno reactivas** (ROS), que pueden dañar el DNA, y están involucradas también en la **apoptosis** (véase antes). Asimismo, se han detectado mutaciones que afectan el **DNA mitocondrial** (**mt**) y, así, diversas proteínas mt, aunque no se han establecido sus papeles precisos en las propiedades biológicas de las células cancerosas. Ya se mencionó la posible participación de la **hexocinasa-2** unida a mitocondrias en el efecto Warburg. Otra enzima mitocondrial que recientemente ha atraído considerable atención es la **isocitrato deshidrogenasa** (IDH) (cap. 18). Se han detectado mutaciones de esta enzima en gliomas y en leucemia mieloide aguda. Éstas causan aumento del 2-hidroxiglutarato, que puede tener efectos sobre las células tumorales. En la **figura 55-16** se resumen algunos de estos puntos respecto a las mitocondrias.

LOS BIOMARCADORES TUMORALES PUEDEN MEDIRSE EN MUESTRAS DE SANGRE

Las pruebas bioquímicas (cap. 56) a menudo son útiles en el manejo de pacientes con cáncer (p. ej., algunos pacientes con cánceres avanzados pueden tener concentración plasmática alta de calcio, que puede causar problemas graves si no se atiende). Muchos cánceres se asocian con producción anormal de enzimas, proteínas y hormonas que pueden medirse en el plasma o el suero. Estas moléculas se conocen como **biomarcadores tumorales**. En el **cuadro 55-15** se listan algunas de ellas.

Sin embargo, en diversas **enfermedades no cancerosas** también hay aumentos importantes de algunos de los biomarcadores listados en el cuadro 55-15. Por ejemplo, la concentración alta de **antígeno específico para próstata** (PSA), una glucoproteína sintetizada por células de la próstata, no sólo se encuentra en pacientes con cáncer de próstata, sino también en pacientes con prostatitis o hiperplasia prostática benigna (BPH). De modo similar, los aumentos del **antígeno carcinoembrionario** (CEA) no sólo se encuentran en pacientes con diversos tipos de cáncer, sino también en fumadores inveterados y personas con colitis ulcerosa y cirrosis. El hecho de que los aumentos de biomarcadores tumorales no son específicos para cáncer ha significado que la medición de casi todos ellos no se usa de manera primaria para el diagnóstico de cáncer. Los principales usos han sido para dar seguimiento a la **eficacia de tratamientos** y para **detectar recurrencia temprana**. El uso de CEA en el manejo de un paciente con cáncer colorrectal se comenta en el capítulo 57, caso 4. Al igual que con otras pruebas de laboratorio (cap. 56), cuando se interpreten los resultados de mediciones de biomarcadores tumorales debe considerarse el **cuadro clínico completo**.

CUADRO 55–15 Algunos biomarcadores tumorales útiles medibles en sangre

Biomarcador tumoral	Cáncer asociado
Alfa-fetoproteína (AFP)	Carcinoma hepatocelular, tumor de células germinales
Calcitonina (CT)	Tiroideo (carcinoma medular)
Antígeno carcinoembrionario (CEA)	Colon, pulmón, mama, páncreas, ovario
Gonadotropina coriónica humana (hCG)	Enfermedad trofoblástica, tumor de células germinales
Inmunoglobulina monoclonal	Mieloma
Antígeno específico para próstata (PSA)	Próstata

Casi todos estos biomarcadores tumorales también están altos en la sangre de pacientes con enfermedades no cancerosas. Por ejemplo, el CEA está alto en diversos trastornos gastrointestinales no cancerosos, y el PSA está alto en la prostatitis y en la hiperplasia prostática benigna. Ésta es la razón por la cual los resultados altos de marcadores tumorales deben interpretarse con precaución, y por la cual sus principales usos son dar seguimiento a la eficacia de tratamientos, y a recurrencias. También se dispone de varios otros biomarcadores tumorales que se usan bastante ampliamente.

Se espera que la investigación continua sobre **proteómica** proporcione nuevos biomarcadores tumorales con **sensibilidad y especificidad aumentadas**, y capaces de alertar respecto a la presencia de **cánceres a un estadio temprano** de su desarrollo.

El uso de **análisis de microarreglo** de células cancerosas ha revelado ciertos biomarcadores útiles. También ha sido útil en la subclasificación de tumores (p. ej., de mama), y ha proporcionado información útil respecto al pronóstico y la predicción de la respuesta a la terapia. Ésta es un área de los análisis de laboratorio que se está expandiendo rápidamente.

EL CONOCIMIENTO DE LOS MECANISMOS INVOLUCRADOS EN LA CARCINOGÉNESIS HA LLEVADO A LA CREACIÓN DE NUEVAS TERAPIAS

Una de las grandes esperanzas de la investigación del cáncer es que revelar los mecanismos fundamentales involucrados en el cáncer **llevará a terapia nueva y mejor**. Esto ya ha ocurrido hasta cierto grado, y se espera que avances continuos aceleren este proceso.

CUADRO 55–16 Algunos agentes anticáncer que se basan en avances recientes del conocimiento de los aspectos biológicos del cáncer

Clase	Ejemplo	Usado para tratar
Inhibidores de la transducción de señal	Imatinib, un inhibidor de la tirosina cinasa	CML
Anticuerpos monoclonales	Trastuzumab, un Mab contra el receptor HER2/Neu	Cáncer mamario en estadio tardío
Agentes antiangiogénesis	Bevacizumab, un Mab contra VEGF A	Cánceres de colon y mama
Agentes antihormonales	Tamoxifeno, antagonista del receptor de estrógeno	Cáncer mamario
Afectan la diferenciación	Ácido holo-*trans*-retinoico, que se dirige al receptor de ácido retinoico sobre células de leucemia promielocítica, lo que hace que se diferencien	Leucemia promielocítica
Afectan cambios epigenéticos	5′ Azadesoxicitidina, inhibe DNA metiltransferasas El SAHA inhibe histona desacetilasas	Ciertas leucemias Linfoma de células T cutáneo

En algunos casos, los agentes anteriores pueden haber quedado remplazados por otros agentes más eficaces. Asimismo, algunos de los anteriores se usan para tratar otras enfermedades además de las listadas.
Abreviaturas: CML, leucemia mielocítica crónica, Mab, anticuerpo monoclonal; SAHA, ácido suberoilanilida hidroxámico (Vorinostat); VEGF A, factor de crecimiento del endotelio vascular A.

Los **quimioterápicos clásicos** comprenden agentes alquilantes, complejos de platino, antimetabolitos, venenos del huso, y otros. Éstos no se comentarán aquí.

Entre las clases de fármacos creadas en fecha más reciente figuran los **inhibidores de la transducción de señal** (incluso inhibidores de la tirosina cinasa), **anticuerpos monoclonales** dirigidos contra diversas moléculas blanco, **inhibidores de receptores de hormona**, **fármacos que afectan la diferenciación**, **agentes antiangiogénesis** y **modificadores de la respuesta biológica**. En el **cuadro 55-16** se listan ejemplos de cada uno de éstos. Ahora se harán algunos comentarios acerca de algunos de estos fármacos.

La identificación de defectos diseminados en los mecanismos de emisión de señales en células cancerosas, y en particular la detección de mutaciones en **tirosina cinasas**, ha llevado a la creación de inhibidores de estas enzimas. El éxito más notorio probablemente ha sido la introducción del imatinib para el tratamiento de leucemia mielocítica crónica (CML). El imatinib es un fármaco que se administra por vía oral, que inhibe la tirosina cinasa formada debido a la translocación cromosómica *ABL-BCR* involucrada en la génesis de la CML. Este fármaco ha producido remisiones completas en muchos pacientes. Puede combinarse con otros medicamentos. También se han creado **otros inhibidores de la tirosina cinasa**. Dos de éstos son el erlotinib y el gefinib, que **inhiben el receptor del factor de crecimiento epidérmico** (**EGFR**). Esta molécula está sobreexpresada en ciertos cánceres pulmonares (p. ej., cánceres de células no pequeñas) y mamarios, lo que da lugar a emisión de señales aberrantes. Tiene importancia apreciar que el diseño de estos fármacos anticáncer y de otros medicamentos requiere **conocimiento estructural detallado** (como el que proporcionan la cristalografía de rayos X, los estudios de NMR, la construcción de modelo, etc.) de las moléculas que se están estableciendo como objetivo. Otra clase de fármacos que han resultado útiles son los **anticuerpos monoclonales** contra diversas moléculas sobre la superficie de células neoplásicas. Algunos de éstos se listan en el cuadro 55-16.

Otros métodos para tratar cáncer que se están usando o que se encuentran en desarrollo, pero que no se listan en el cuadro 55-16, comprenden diversos tipos de **terapia génica** (incluso siRNA, cap. 34), **inmunoterapia** (véase más adelante), **virus oncolíticos** (virus que invaden de preferencia células tumorales y las matan), **inhibidores del receptor de progesterona**, **inhibidores de la aromatasa** (cap. 41) (para algunos cánceres mamarios y ováricos), **inhibidores de la telomerasa**, aplicaciones de **nanotecnología** (p. ej., nanoconchas y otras nanopartículas), **fototerapia** (cap. 31) y fármacos que se **dirigirán de manera selectiva a células madre cancerosas**.

Tiene importancia apreciar que todos los fármacos anticáncer generan **efectos secundarios**, a veces graves, y que después de periodos variables puede aparecer **resistencia** a muchos de ellos. Los aspectos bioquímicos del **modo en que las células cancerosas presentan resistencia a fármacos** constituyen un área de investigación importante que no se describirá aquí. El impulso general del desarrollo de fármacos para la terapia de cáncer es usar nueva información que está surgiendo a partir de estudios básicos de los aspectos biológicos del cáncer, para crear agentes más seguros y más eficaces. El entendimiento de las **diferencias genéticas** en el metabolismo de fármacos (cap. 53) también puede ayudar a **personalizar tratamientos con fármacos anticáncer**. En la **figura 55-17** se resumen algunos de los **blancos** para farmacoterapia, y algunas **terapias** que están surgiendo, que se han desarrollado a partir de estudios relativamente recientes de aspectos básicos del cáncer.

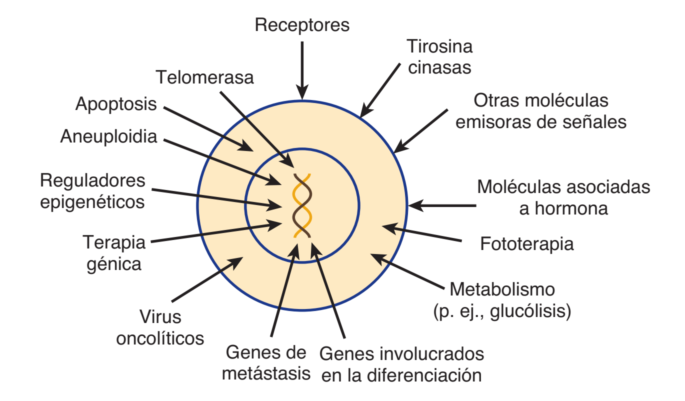


FIGURA 55–17 Algunos blancos de fármacos anticáncer y algunas terapias que están surgiendo, ambos de los cuales se han desarrollado a partir de investigación relativamente reciente. En la figura no se muestran agentes antiangiogénicos, aplicaciones de nanotecnología, terapias dirigidas contra células madre cancerosas ni métodos inmunológicos. Casi todos los blancos y las terapias indicados se comentan brevemente en el texto.

HAY MUCHOS ASPECTOS INMUNITARIOS DEL CÁNCER

La inmunología tumoral es un tema grande. Aquí sólo se harán algunos comentarios al respecto. Parece probable que la declinación de la capacidad de respuesta del sistema inmunitario que acompaña al **envejecimiento** participa en el aumento de la incidencia de cáncer en personas de edad avanzada. Una esperanza que ha estado presente desde hace mucho tiempo ha sido que los métodos inmunológicos, debido a su **especificidad**, podrían conferir la capacidad de matar células cancerosas de manera selectiva. Hay muchos estudios en proceso en los que se está investigando esta posibilidad. Éstos comprenden el uso de diversos **anticuerpos**, **vacunas**, y el **uso de diversos tipos de células T** que por lo general han sido manipuladas de una u otra manera para aumentar su capacidad para matar células neoplásicas.

La **inflamación crónica** involucra aspectos de la función inmunitaria. Hay evidencia de que puede **predisponer a cáncer** (p. ej., la incidencia de cáncer colorrectal es mucho más alta que lo normal en individuos que han tenido colitis ulcerosa de larga evolución). Algunas células inflamatorias producen cantidades relativamente grandes de **especies de oxígeno reactivas**, que pueden causar daño del DNA, y quizá contribuir a la oncogénesis. También se ha informado que la **aspirina en dosis bajas** puede disminuir el riesgo de aparición de cáncer colorrectal, quizá por su acción antiinflamatoria.

RESUMEN

- El cáncer se debe a mutaciones en genes que controlan la multiplicación celular, la muerte celular (apoptosis) y las interacciones entre una célula y otra (p. ej., adhesión celular). Otros aspectos importantes del cáncer son defectos difundidos en vías de emisión de señales celulares, estimulación de la angiogénesis, y aneuploidia.
- Casi todos los cánceres se deben a mutaciones que afectan células somáticas. Sin embargo, se han identificado muchas enfermedades cancerosas hereditarias.
- Las principales clases de genes involucrados en el cáncer son oncogenes y genes supresores tumorales. Las mutaciones que afectan genes que dirigen la síntesis de micro-RNA y la expresión de los mismos también son importantes.
- Cada vez se están reconociendo más cambios epigenéticos en el cáncer (y en otras enfermedades); una razón para el interés por ellos es que pueden ser cambios reversibles.
- Los aspectos biológicos de las metástasis se están explorando de manera intensiva; el descubrimiento de genes aumentadores de metástasis y supresores de metástasis, entre otros datos, puede llevar a nuevas terapias.
- El proceso de apoptosis se describió brevemente. Las células cancerosas adquieren mutaciones que les permiten evadir la apoptosis, lo que prolonga su existencia.
- La secuenciación de todo el genoma de cánceres está ayudando a revelar las mutaciones importantes que se encuentran en muchos tipos de cáncer, y está proporcionando información nueva acerca de la evolución de células cancerosas.
- Las células cancerosas muestran diversas alteraciones del metabolismo. Un dato importante que ha atraído mucha atención es la tasa alta de glucólisis aeróbica mostrada por muchas células. Se describen posibles explicaciones para este fenómeno. Las mitocondrias muestran algunas alteraciones en muchas células cancerosas.
- En general, la aparición de cáncer es un proceso de múltiples pasos que comprende cambios genéticos que confieren ventajas selectivas sobre clonas de células, algunas de las cuales finalmente adquieren la capacidad para metastatizar exitosamente. Debido a la diversidad de mutaciones, es posible que no haya dos tumores que tengan genomas idénticos.
- Los marcadores tumorales pueden ayudar en el diagnóstico temprano de cáncer. Son particularmente útiles para dar seguimiento a la respuesta del cáncer al tratamiento, y para detectar recurrencias.
- Los avances en el entendimiento de los aspectos de biología molecular de las células cancerosas han llevado a la introducción de varias terapias nuevas, y otras se encuentran en estudio.

REFERENCIAS

Berger M, Lawrence, MS, Demechelis F, et al: The genomic complexity of primary human prostate cancer. Nature 2011;470(7333):214.

Bielas JH, Loeb KR, Rubin BP, et al: Human cancers express a mutator phenotype. Proc Natl Acad Sci USA 2006;103(48):18238.

Couzin-Frankel J: Immune therapy steps up the attack. Science 2010;330:440.

Croce CM: Oncogenes and cancer. N Engl J Med 2008;358(5):502. (Es uno de una serie de 12 artículos sobre el origen molecular de cáncer publicados en esta revista entre el 31 de enero de 2008 y el 17 de diciembre de 2009.)

Dick JE: Stem cell concepts renew cancer research. Blood 2008;112:4793.

Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, et al (editors): *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17th ed. McGraw-Hill, 2008. (Varios capítulos abarcan diversos aspectos del cáncer, pero los capítulos 77a 81 y 103 a 106 son particularmente relevantes para este capítulo.)

Green DR: *Means to an End: Apoptosis and Other Cell Death Mechanisms*. Cold Spring Harbor Press, 2010.

Kaiser J: Epigenetic drugs take on cancer. Science 2010;330:576.

Lodish H, Berk A, Kaiser CA, et al: *Molecular Cell Biology*. 6th ed. WH Freeman & Co, 2008. (Incluye un amplio capítulo sobre el cáncer.)

Mukerjee S: *The Emperor of All Maladies: A Biography of Cancer*. Scribner, 2010.

Nussbaum RL, McInnes, RR, Willard HF: *Thompson and Thompson Genetics in Medicine*. 7th ed. Saunders Elsevier, 2007.

Tannock IF, Hill RP, Bristow RG, Harrington L (editors): *The Basic Science of Oncology*. 4th ed. McGraw-Hill, 2005.

Thompson SL, Bakhoum SF, Compton DA: Mechanisms of chromosomal instability. Curr Biol 2010;20(6):R285.

Weinberg R: *The Biology of Cancer,* Garland Science. 2006.

Yachida S, Jones S, Bozic I, et al: Distant metastasis occurs late during the genetic evolution of pancreatic cancer. Nature 2010 (Oct 28);467(7319):1114.

Journals dedicated to cancer research include the British Journal of Cancer, Cancer Research, Journal of the National Cancer Institute and Nature Reviews Cancer.

Sitios web útiles:

American Cancer Society. http://www.cancer.org

National Cancer Institute, U.S. National Institute of Health. http://www.cancer.gov

The Cancer Genome Atlas. http://cancergenome.nih.gov

GLOSARIO

Análisis de Ames: un sistema de análisis ideado por el Dr. Bruce Ames, en el que se utiliza *Salmonella typhimurium* diseñada especialmente para detectar mutágenos. Casi todos los carcinógenos son mutágenos, pero si se detecta mutagenicidad de una sustancia química, lo ideal es probarla respecto a carcinogenicidad mediante pruebas en animales.

Análisis de microarreglo: análisis usando una lámina, a menudo hecha de silicio, en la cual se han colocado pequeñas cantidades de miles de ácidos nucleicos diferentes. Se aplican muestras de cDNA o de DNA genómico y se permite que se hibriden (unión entre secuencias complementarias). Las interacciones pueden cuantificarse para evaluar la expresión de gen u otros parámetros. Se dispone de diversos microarreglos comerciales ("chips de genes"). Esta técnica se está aplicando cada vez más a pacientes con cánceres, a fin de ayudar en la clasificación del tumor, y en predicciones del pronóstico y de la respuesta a la farmacoterapia.

Aneuploidia: se refiere a cualquier estado en el cual el número de cromosomas de una célula no es un múltiplo exacto del número haploide básico. La aneuploidia se encuentra en muchas células tumorales y puede desempeñar un papel fundamental en la aparición de cáncer.

Angiogénesis: la formación de vasos sanguíneos nuevos. La angiogénesis a menudo es activa alrededor de células tumorales, lo que asegura que obtengan un riego sanguíneo adecuado. El tumor y las células circundantes secretan varios factores de crecimiento (p. ej., factor de crecimiento del endotelio vascular, VEGF) que están involucrados en este proceso.

Apoptosis: muerte celular debida a la activación de un programa genético que causa fragmentación del DNA celular y otros cambios. Las caspasas desempeñan un papel fundamental en el proceso. Muchos reguladores positivos y negativos la afectan. La proteína *P53* induce apoptosis como una respuesta al daño del DNA celular. Casi todas las células cancerosas muestran anormalidades de la apoptosis, debido a diversas mutaciones que ayudan a asegurar su supervivencia prolongada.

Cáncer: un crecimiento maligno de células.

Carcinógeno: cualquier agente (p. ej., una sustancia química o radiación) capaz de hacer que las células se tornen cancerosas.

Carcinoma: tumor maligno de origen epitelial. Un cáncer de origen glandular o que muestra características glandulares por lo general se designa adenocarcinoma.

Caspasas: enzimas proteolíticas que desempeñan un papel fundamental en la apoptosis, pero que también están involucradas en otros procesos. Hay alrededor de 15 en seres humanos. Las caspasas hidrolizan enlaces peptídicos en posición justo C terminal a residuos aspartato.

Célula madre cancerosa: una célula dentro de un tumor que tiene la capacidad para renovarse por sí misma y para dar lugar a las líneas heterogéneas de células cancerosas que se encuentran en el tumor.

Células malignas: son células cancerosas, células con la capacidad de crecer de una manera irrestricta, invadir y diseminarse (metastatizar) hacia otras partes del cuerpo.

Centríolo: un arreglo de microtúbulos que están pareados y se encuentran en el centro de un centrosoma. (Véase también **Centrosoma**.)

Centrómero: la región constreñida de un cromosoma mitótico donde las cromátides están unidas entre sí. Se encuentra en estrecha proximidad al cinetocoro. Las anormalidades de los centrómeros pueden contribuir a CI. (Véase también **Cinetocoro**.)

Centrosoma: un orgánulo ubicado centralmente que es el centro organizador de microtúbulos primario de una célula. Actúa como el polo del huso durante la división celular.

Ciclo celular: los diversos eventos respecto a la división celular que ocurren conforme una célula pasa de una mitosis a otra.

Cinetocoro: una estructura que se forma en cada cromosoma mitótico adyacente al centrómero. Las mutaciones que afectan las estructuras de las proteínas que lo componen podrían contribuir a causar CI. (Véase también **Centrómero**.)

Clona: todas las células de una clona se derivan de una célula progenitora.

Complejo pasajero cromosómico: un complejo de proteínas que desempeña un papel clave en la regulación de la mitosis. En el centrómero, dirige la alineación del cromosoma y participa en el montaje del huso. Sus proteínas comprenden aurora B cinasa y survivina. Las mutaciones que afectan sus proteínas pueden contribuir a CI y aneuploidia.

Cromátide: un cromosoma único.

Cromosoma Filadelfia: un cromosoma formado por una translocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22. Es la causa de la leucemia mieloide crónica (CML). Para formar el cromosoma anormal, parte del gen *BCR* (región de agrupamiento de punto de rotura) del cromosoma 22 se fusiona con parte del gen *ABL* (que codifica para una tirosina cinasa) del cromosoma 9, lo que dirige la síntesis de una proteína quimérica que tiene actividad de tirosina cinasa no regulada e impulsa proliferación celular. La actividad de esta cinasa es inhibida por el fármaco imatinib, que se ha usado exitosamente para tratar CML. (Véase también **Translocación cromosómica**.)

Deslizamiento de replicación: un proceso en el cual, debido a liberación inadecuada de cadenas de DNA donde ocurren secuencias repetidas, la DNA polimerasa hace una pausa y se disocia, lo que da lugar a deleciones de secuencias repetidas o inserciones de las mismas.

Epigenética: se refiere a cambios de la expresión de gen sin cambio de la secuencia de bases en el DNA. Los factores que causan cambios epigenéticos son metilación de bases en el DNA, modificaciones postraduccionales de histonas, y remodelado de la cromatina.

Factores de crecimiento: diversos polipéptidos secretados por muchas células normales y tumorales. Estas moléculas actúan por medio de modos autocrino (afectan las células que producen el factor de crecimiento), paracrino (afectan las células vecinas) o endocrino (viajan en la sangre y afectan células distantes). Estimulan la proliferación de células blanco mediante interacciones con receptores específicos. También tienen muchas otras propiedades biológicas.

Factores inducibles por hipoxia: una familia de factores de transcripción (al menos tres) importantes en la dirección de respuestas celulares a diversas concentraciones de oxígeno. Cada factor está formado de una subunidad α regulada por oxígeno diferente, y una subunidad β constitutiva común. A concentración fisiológica de oxígeno, la subunidad α pasa por degradación rápida, iniciada por propil hidroxilasas. Los HIF tienen diversas funciones; por ejemplo, el HIF-1 regula en dirección ascendente diversos genes que codifican para enzimas de la glucólisis, y la expresión de factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF).

Gen supresor tumoral: un gen cuyo producto proteínico normalmente restringe el crecimiento celular, pero cuando su actividad se pierde o se reduce por mutación contribuye al desarrollo de una célula cancerosa.

Inestabilidad cromosómica (CI): la tasa de ganancia o pérdida de cromosomas enteros o segmentos de ellos, causada por anormalidades de la segregación cromosómica durante la mitosis. (Véanse también **Inestabilidad genómica** e **Inestabilidad de microsatélite**.) Hay varios trastornos que se denominan *síndromes de CI* porque se asocian con anormalidades cromosómicas. Uno de ésos es el síndrome de Bloom, en el cual se observa una frecuencia alta de intercambios de cromátide hermana. En estas enfermedades se encuentra una incidencia aumentada de diversos cánceres.

Inestabilidad de microsatélite: expansión o contracción de repeticiones en tándem cortas (microsatélites) debido a

deslizamiento de la replicación, anormalidades de la reparación de errores de emparejamiento, o de recombinación homóloga. Para **Microsatélites**, véase el capítulo 35.

Inestabilidad genómica: esto se refiere a varias alteraciones del genoma, de las cuales las dos principales son la CI y la inestabilidad de microsatélite. En general, refleja el hecho de que los genomas de células cancerosas son más susceptibles a mutaciones que las células normales, debido en parte a deterioro de los sistemas de reparación del DNA.

Leucemias: diversas enfermedades malignas en las cuales leucocitos de diversas clases (p. ej., mieloblastos, linfoblastos, etc.) proliferan de una manera irrestricta. Las leucemias pueden ser agudas o crónicas.

Linfoma: grupo de neoplasias que surgen en los sistemas reticuloendotelial y linfático. Los principales miembros del grupo son los linfomas de Hodgkin y no Hodgkin.

Linfoma de Burkitt: éste es un linfoma de células B, endémico en partes de África, donde afecta principalmente la mandíbula y los huesos faciales. También se encuentra en otros lugares. Es característica una translocación recíproca que comprende el gen C-*MYC* en el cromosoma 8 y el gen que codifica para la cadena pesada de inmunoglobulina en el cromosoma 14.

Metástasis: la capacidad de las células cancerosas para diseminarse hacia partes distantes del cuerpo y crecer ahí.

Modificadores de la respuesta biológica: moléculas producidas por el cuerpo o en el laboratorio, que cuando se administran a pacientes alteran la respuesta del organismo a la infección, la inflamación y otros procesos. Los ejemplos son anticuerpos monoclonales, citocinas, interleucinas, interferones y factores de crecimiento.

Mutación conductora: una mutación en un gen que ayuda a causar cáncer o lo acelera. Las mutaciones que se encuentran en tumores que no causan cáncer o su progresión se llaman *mutaciones pasajeras*.

Nanotecnología: el desarrollo y la aplicación de dispositivos de sólo algunos nanómetros de tamaño (10^{-9} m = 1 nm). Algunos se están aplicando a la terapia de cáncer. Por ejemplo, las nanoconchas (partículas esféricas muy pequeñas con un centro de sílice y una cubierta de oro) afinadas a luz cercana a la infrarroja se han administrado a ratones que presentan tumores, en los cuales se acumulan las nanoconchas. Los tumores después se sujetaron a luz láser cercana al infrarrojo. Esto calentó los tumores de manera selectiva, los mató, y no hubo signo de recurrencia en el seguimiento. (Morton JG *et al*.: Nanoshells for photothermal cancer therapy. Methods Mol Biol 2010;624:101. June 25, 2010).

Necrosis: muerte celular inducida por sustancias químicas o lesión de tejido. Hay liberación de diversas enzimas hidrolíticas que digieren moléculas celulares. No es un proceso genéticamente programado, como lo es la apoptosis. Las células afectadas por lo general estallan y liberan su contenido, lo que causa inflamación local.

Neoplasia: cualquier crecimiento nuevo de tejido, benigno o maligno.

Oncogén: un protooncogén mutado cuyo producto proteínico está involucrado en la transformación de una célula normal en una célula cancerosa.

Oncología: área de la ciencia médica que estudia todos los aspectos del cáncer (causas, diagnóstico, tratamiento, etc.).

Pérdida de la heterocigosidad (LOH): esto ocurre cuando hay pérdida del alelo normal (que a menudo codifica para un gen supresor tumoral) de un par de cromosomas heterocigóticos, lo que permite que los resultados del alelo defectuoso se manifiesten en clínica.

Pólipo adenomatoso: tumor benigno de origen epitelial que tiene el potencial de convertirse en un carcinoma. Los adenomas a menudo son polipoides. Un pólipo es un tumor que sobresale desde una mucosa; casi todos son benignos, pero algunos pólipos pueden hacerse malignos.

Procarcinógeno: una sustancia química que se convierte en carcinógeno cuando es alterada por el metabolismo.

Protooncogén: un gen celular normal, que cuando está mutado puede dar lugar a un producto que estimula el crecimiento de células, lo que contribuye a la aparición de cáncer.

Receptor FAS: un receptor que inicia la apoptosis cuando se une a su ligando, FAS. FAS es una proteína que se encuentra sobre la superficie de células asesinas naturales activadas, linfocitos T citotóxicos, y otras fuentes.

Remodelado de cromatina: cambios conformacionales de nucleosomas desencadenados por las acciones de complejos multiproteínicos (como el complejo SW1/SNF). Estos cambios alteran la transcripción de gen (la activan o la desactivan, dependiendo de las condiciones específicas). Los complejos contienen dominios homólogos helicasa dependiente de ATP; éstos se encuentran involucrados en los cambios de conformación. Las mutaciones que afectan proteínas de los complejos, como puede encontrarse en células cancerosas, pueden afectar la expresión de gen. (Véase también **Epigenética**.)

Retinoblastoma: raro tumor de la retina. La mutación del gen supresor tumoral *RB* desempeña un papel clave en su aparición. Los pacientes con retinoblastomas hereditarios han heredado una copia mutada del gen RB, y sólo necesitan otra mutación para presentar el tumor. Los pacientes con retinoblastomas esporádicos nacen con dos copias normales, y requieren dos mutaciones para desactivar el gen.

Sarcoma: un tumor maligno de origen mesenquimatoso (p. ej., proveniente de células de la matriz extracelular o de otras fuentes).

Síndrome de Bloom: uno de los síndromes de CI. Se debe a mutaciones de la DNA helicasa. Los sujetos son sensibles a daño del DNA y pueden presentar diversos tumores.

Telómeros: estructuras en los extremos de cromosoma que contienen múltiples repeticiones de secuencias de DNA hexanucleótido específicas. Los telómeros de células normales se acortan con la división celular repetida, lo que puede dar por resultado muerte celular. La enzima telomerasa replica telómeros, y a menudo se expresa en células cancerosas y las ayuda a evadir la muerte celular. La telomerasa por lo general no se detecta en células somáticas normales.

Transformación: el proceso mediante el cual células normales en cultivo de tejido cambian a células anormales (p. ej., por virus o sustancias químicas oncogénicos), algunas de las cuales pueden ser malignas.

Translocación: el desplazamiento de una parte de un cromosoma a un cromosoma diferente o a una parte diferente del mismo cromosoma. Los ejemplos clásicos son la translocación que se encuentra en el linfoma de Burkitt (véase antes), y la translocación entre los cromosomas 9 y 22, que causa la aparición del cromosoma Filadelfia que se encuentra en la leucemia mielógena crónica. Se han hallado translocaciones en muchas células cancerosas.

Translocación cromosómica: cuando parte de un cromosoma queda fusionado a otro, lo que a menudo causa activación de un gen en el sitio. El cromosoma Filadelfia (véase antes) es uno de muchos ejemplos de una translocación cromosómica involucrada en el origen de cáncer.

Tumor: cualquier crecimiento nuevo de tejido, pero por lo general se refiere a una neoplasia benigna o maligna.

Variaciones del número de copia (CNV): variaciones (debidas a duplicaciones o deleciones) entre individuos respecto al número de copias que tienen de genes particulares. Las CNV se están reconociendo cada vez más para diversos genes, y algunas pueden asociarse con diversas enfermedades, incluso ciertos tipos de cáncer.

Virus del sarcoma de Rous (RSV): un virus tumoral RNA que causa sarcomas en pollos. Fue descubierto en 1911 por Peyton Rous. Es un retrovirus que usa transcriptasa inversa en su replicación; la copia de RNA de su genoma después se integra en el genoma de la célula huésped. Se ha utilizado ampliamente en estudios de cáncer, y su uso ha llevado a muchos datos importantes.